

糖化血清蛋白（GSP）含量检测试剂盒（NBT 法）说明书

可见分光光度法

货号：BC4940

规格：50T/48S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 2 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	-20℃保存

溶液的配制：

标准品：临用前加入 0.8 mL 试剂二，充分溶解，配制成 10 mmol/L DMF 标准液，2-8℃保存 4 周；再取 40 μL 10 mmol/L DMF 标准液和 60 μL 试剂二混合配制成 4 mmol/L 标准溶液待测。

产品说明：

血清葡萄糖与白蛋白及其它血清蛋白分子 N 末端的氨基发生非酶促糖化反应，形成高分子酮胺结构，在碱性条件下与硝基四氯唑蓝反应，生成紫红色化合物甲贲。在 530nm 波长处比色，测定其 OD 值，与 DMF 标准比较，即可求得其含量。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、恒温培养箱、低温离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

血清（浆）：收集血清（浆）到离心管内，按照血清（浆）体积（mL）：试剂一体积（mL）= 10:1 的比例（建议吸取 0.5 mL 血清（浆）于 EP 管中，加入 0.05 mL 试剂一），充分混匀，于 37℃保温 30 min。

二、测定步骤

- 1、可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 530 nm，蒸馏水调零。
- 2、标准溶液：按照标准溶液体积（mL）：试剂一体积（mL）= 10:1 的比例（建议吸取 0.5 mL 4 mmol/L 标准溶液于 EP 管中，加入 0.05 mL 试剂一），充分混匀，于 37℃保温 30 min。
- 3、按下表步骤加样：

试剂名称（μL）	测定管	空白管	标准管	标准空白管
样本	50			
蒸馏水		50		
标准溶液			50	





试剂二				50
试剂三	1000	1000	1000	1000
37°C显色 15min				
试剂四	50	50	50	50
充分混匀，取 1 mL 于 1 mL 玻璃比色皿中，于 530 nm 处测定吸光度。分别记为 A 测定、A 空白、A 标准、A 标准空白。 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 标准空白。				

注：空白管和标准空白管均只需做 1-2 次。

三、糖化血清蛋白含量计算

糖化血清蛋白含量 (mmol/L) = $C \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F = 4 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$

C：标准溶液浓度，4 mmol/L；F：稀释倍数。

注意事项：

1、显色完成后，应立即加入试剂四；建议一次性不要做太多样本，防止试剂四加入不及时导致测定结果受到影响。

2、如果测定吸光值 $A > 1.0$ 或 $\Delta A > 0.8$ ，建议稀释样本后再测定，计算公式中乘以稀释倍数；如果测定吸光值较低或接近空白 OD 值，建议增加操作表中的样本量后再进行测定（空白管、标准管、标准空白管需要增加至相同体积量）。

实验实例：

1、取 0.5 mL 小鼠血清加入 0.05 mL 试剂一，充分混匀，于 37°C 保温 30 min。标准溶液处理同上。按照测定步骤操作，测定后计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.315 - 0.002 = 0.313$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{标准空白}} = 0.29 - 0.092 = 0.198$ ，按公式计算小鼠血清中糖化血清蛋白含量：

糖化血清蛋白含量 (mmol/L) = $C \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 4 \times 0.313 \div 0.198 = 6.323$ mmol/L。

2、取 0.5 mL 马血清加入 0.05 mL 试剂一，充分混匀，于 37°C 保温 30 min。标准溶液处理同上。按照测定步骤操作，测定 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.098 - 0.002 = 0.096$ ，测定 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{标准空白}} = 0.29 - 0.092 = 0.198$ ，按公式计算血清中糖化血清蛋白含量：

糖化血清蛋白含量 (mmol/L) = $C \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 4 \times 0.096 \div 0.198 = 1.939$ mmol/L。

相关发表文献：

[1] Wang R, Zhang L, Zhang Q, Zhang J, Liu S, Li C, Wang L. Glycolipid Metabolism and Metagenomic Analysis of the Therapeutic Effect of a Phenolics-Rich Extract from Noni Fruit on Type 2 Diabetic Mice. J Agric Food Chem. 2022 Mar 9;70(9):2876-2888. doi: 10.1021/acs.jafc.1c07441. Epub 2022 Feb 17. PMID: 35175775.



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.