

## 糖化血清蛋白（GSP）含量检测试剂盒（NBT 法）说明书

微量法

货号：BC4945

规格：100T/96S

**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 30 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂四  | 液体 2 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；取 20 μL 10 mmol/L DMF 标准液和 30 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/酶标仪、低温离心机、恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、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 0.2 mL 血清（浆）于 EP 管中，加入 0.02 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/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 530 nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 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 0.2 mL 4 mmol/L 标准溶液于 EP 管中，加入 0.02 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       | 10  |     |     |       |
| 蒸馏水      |     | 10  |     |       |
| 标准溶液     |     |     | 10  |       |





|                                                                                                              |     |     |     |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| 试剂二                                                                                                          |     |     |     | 10  |
| 试剂三                                                                                                          | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 37°C显色 15min                                                                                                 |     |     |     |     |
| 试剂四                                                                                                          | 10  | 10  | 10  | 10  |
| 充分混匀，取 200 μL 于微量玻璃比色皿或 96 孔板中，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  $A > 1.5$  或  $\Delta A > 1$ ，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 0.2 mL 小鼠血清加入 0.02 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，用 96 孔板测定计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.252 - 0.044 = 0.208$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{标准空白}} = 0.227 - 0.101 = 0.126$ ，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) =  $C \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 4 \times 0.208 \div 0.126 = 6.603 \text{ mmol/L}$ 。

2、取 0.2 mL 马血清加入 0.02 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，用 96 孔板测定计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.1 - 0.044 = 0.056$ ，测定  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{标准空白}} = 0.227 - 0.101 = 0.126$ ，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) =  $C \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 4 \times 0.056 \div 0.126 = 1.778 \text{ mmol/L}$ 。

### 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.