（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K069-M

产品规格：48T(42 samples)/96T(90 samples)

检测仪器：酶标仪(520-550 nm)

Elabscience®糖化血清蛋白(GSP)比色法测试盒

Glycosylated Serum Protein (GSP)

Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆样本中糖化血清蛋白(GSP)含量。

检测原理

血液中的葡萄糖与血清蛋白通过非酶促反应形成具有酮胺结构的糖化血清蛋白(glycosylated serum protein, GSP)，亦称血清果糖胺，其含量可有效反应测定前 1-3 周内平均血糖的水平。糖化血清蛋白不受临时血糖浓度波动的影响，为糖尿病的研究和较长时间血糖水平控制的研究提供了很好的指标。具有酮胺结构的糖化血清蛋白，在碱性条件下能与四氮唑蓝发生反应，生成紫红色甲臜产物，在 530 nm 波长处有特征吸收峰，吸光度的大小可反应糖化血清蛋白浓度。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	标准品稀释液 (Standard Diluent)	0.5 mL×1 支	0.5 mL×1 支	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	2 mmol/L 标准品溶液 (2 mmol/L Standard Solution)	0.5 mL×1 支	0.5 mL×1 支	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	12 mL×1 瓶	25 mL×1 瓶	-20°C避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	终止液 (Stop Solution)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(520-550 nm，最佳检测波长为 530 nm)，37°C 恒温箱。

试剂准备

检测前，将试剂一、试剂二和试剂四平衡至室温，试剂三放入37°C恒温箱预热1小时。

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：直接测定，若样本中有浑浊，可 4°C 条件下 5000 × g 离心 5 min，取上清部分进行测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.06-4.0 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	大鼠血清	不稀释
小鼠血清	不稀释		

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

① 酶标板孔加入试剂三时，需避免产生气泡；

② 乳糜和溶血会对测定结果产生干扰，避免使用该类样本进行测定；

③ 试剂三加入显色体系时，需要提前进行预热至 37°C。

操作步骤

① 标准对照孔：加入 10 μL 试剂一；

标准孔：加入 10 μL 试剂二；

空白孔：加入 10 μL 双蒸水；

测定孔：加入 10 μL 待测样本。

② 向步骤①各孔中加入 200 μL 试剂三。

③ 混匀，37°C 孵育 15 min。

④ 向步骤③的各孔中加入 50 μL 试剂四。

⑤ 混匀，酶标仪于波长 530 nm 处测定各孔 OD 值。

操作表

	标准对照孔	**标准孔**	**空白孔**	**测定孔**
试剂一(μL)	10	--	--	--
试剂二(μL)	--	10	--	--
双蒸水(μL)	--	--	10	--
待测样本(μL)	--	--	--	10
试剂三(μL)	200	200	200	200
混匀，37°C 孵育 15 min				
试剂四(μL)	50	50	50	50
混匀，酶标仪于波长 530 nm 处测定各孔 OD 值				

结果计算

血清(浆)样本计算公式:

$$\text{GSP 含量 (mmol/L)} = \frac{A - A_0}{A_2 - A_1} \times 2^*$$

注解:

A：测定孔的 OD 值

A_0：空白孔的 OD 值

A_2：标准孔的 OD 值

A_1：标准对照孔的 OD 值

2*：标准品浓度(2 mmol/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

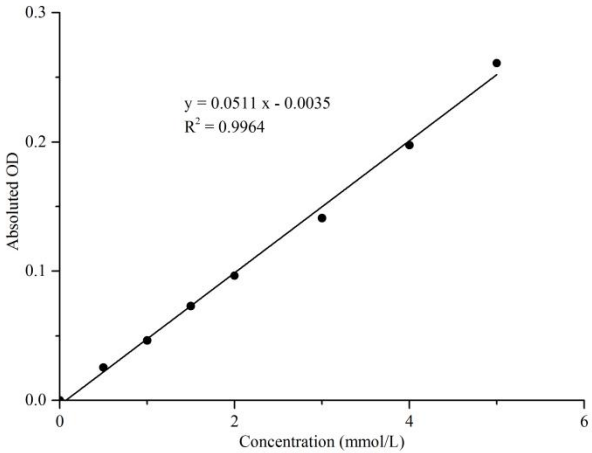
检测范围	0.06-4.0 mmol/L	**平均批间差**	6.3 %
灵敏度	0.06 mmol/L	**平均批内差**	4.4 %
平均回收率	104 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 标准品浓度测定数据(数据仅供参考)：

标准品浓度(mmol/L)	**0**	**0.5**	**1**	**1.5**	**2**	**3**	**4**	**5**
OD 值	0.076	0.099	0.124	0.152	0.170	0.224	0.280	0.339
	0.076	0.104	0.121	0.146	0.175	0.210	0.267	0.335
平均 OD 值	0.076	0.102	0.123	0.149	0.173	0.217	0.274	0.337
绝对 OD 值	0.000	0.026	0.047	0.073	0.097	0.141	0.198	0.261

② 按上表数据绘制标准曲线，如下图所示：



附录2 实例分析

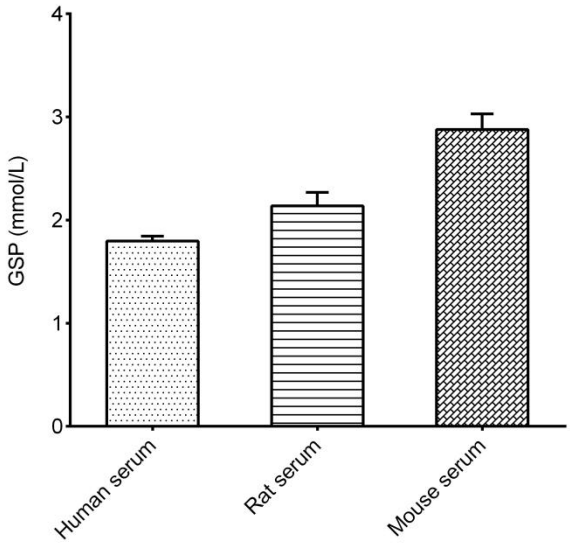
例如检测人血清(数据仅供参考)：

取10 μL人血清样本，按操作表进行检测，其结果如下。

标准对照孔平均OD值为0.111，标准孔平均OD值为0.255，空白孔平均OD值为0.044，测定孔平均OD值为0.174，计算结果如下：：

$$\text{GSP 含量 (mmol/L)} = \frac{0.174 - 0.044}{0.255 - 0.111} \times 2 = 1.81 \text{ mmol/L}$$

按照说明书，测定人血清(加样量10 μL)、大鼠血清(加样量10 μL)、小鼠血清(加样量10 μL)中糖化血清蛋白含量(如下图)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
标准孔 OD 值小于 0.15	孵育温度不当	在 37℃孵育，且试剂三需预热

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。