

两种检测糖化血红蛋白(HbA1c)方法的比较

李俊敏¹, 杨莹¹, 董旭婉¹, 李杉¹, 王菊芳¹, 曹成喜²

(1. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东省发酵与酶工程重点实验室, 广东广州 510006)

(2. 上海交通大学生命科学与技术学院, 上海 200240)

摘要: 血液中糖化血红蛋白(HbA1c)水平是衡量人体内长期血糖状态的标准。国际临床化学和实验医学联合会(IFCC)将高效液相色谱(HPLC)作为检测糖化血红蛋白的标准参考方法; 而20 mmol/L NaOH(阴极电解液)和20 mmol/L H₂SO₄(阳极电解液)形成的稳定pH梯度及含两性电解质的凝胶使毛细管等电聚焦电泳(cIEF)在窄PH梯度下对糖化血红蛋白有着显著的分选效率; 本文将对HPLC与凝胶cIEF进行分析比较。采用HPLC和凝胶cIEF方法分别测定随机46例血样样品的HbA1c值, 对两组测定结果进行相关性分析。表明两种测定方法相关性良好; 但是, 由于HPLC方法易受血红蛋白变异体干扰, 特异性较低; cIEF不受血红蛋白变异体干扰, 特异性高。因此, 凝胶cIEF方法可以作为HPLC的替代方法应用于糖化血红蛋白的标准检测

关键词: 糖化血红蛋白; 高效液相色谱; 毛细管等电聚焦

文章编号: 1673-9078(2016)1-284-289

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.045

Comparison of Two Methods for Glycated Hemoglobin (HbA1c) Measurement

LI Jun-min¹, YANG Ying¹, DONG Xu-wan¹, LI Shan¹, WANG Ju-fang¹, CAO Cheng-xi²

(1. School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Fermentation and Enzyme Engineering, Guangzhou 510006, China)

(2. Life Science and Technology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: The level of glycated hemoglobin (HbA1c) in the blood is a standard measure of the long-term glycemic status of the human body. High-performance liquid chromatography (HPLC) is the standard reference method for HbA1c measurement as designated by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Gel-capillary isoelectric focusing (cIEF) with a stable pH gradient of 20 mmol/L NaOH (catholyte solution) and 20 mmol/L sulfuric acid (anolyte solution) and gels containing ampholytes have outstanding separation power. In this study, HPLC has been compared to gel-cIEF for the measurement of HbA1c. HPLC and gel-cIEF were used to measure the HbA1c values of 46 randomly selected blood samples. Correlation analysis revealed that the two methods showed a good correlation. The HPLC method was prone to interference by hemoglobin variants and exhibited low specificity. The gel-cIEF method was not affected by hemoglobin variants and showed high specificity. In conclusion, gel-cIEF can be used as an alternative method to HPLC for the standard detection of glycated hemoglobin.

Key words: glycated hemoglobin; high performance liquid chromatography; capillary isoelectric focusing

糖尿病是由血糖水平升高引起的一种慢性代谢紊乱性疾病, 可导致多种并发症, 包括心脏疾病, 肾脏病, 神经性疾病, 坏疽, 失明, 和神经损伤等^[1]。近年来, 世界范围内的发病率逐年升高, 2000年患病人数大约占世界人口的2.8%, 2030年将达到4.4%,

收稿日期: 2015-04-25

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项项目“双向凝胶电泳(2DE)成套设备技术开发与应用的研究”(2011YQ030139)

作者简介: 李俊敏(1988-), 女, 硕士研究生, 从事生物化学与分子学研究
通讯作者: 李杉(1972-), 女, 副教授, 主要研究领域为生物化学与分子生物学, 细胞生物学

即2000年糖尿病患者为1.71亿, 2030年预计将超过3.66亿^[2]。对正常人及糖尿病患者血糖水平的监控, 使血糖值保持在正常范围内, 是减少糖尿病病人及预防糖尿病严重并发症的必要手段。

糖化血红蛋白(HbA1c), 糖化血红蛋白浓度和总血红蛋白浓度之间比率^[3]。糖化血红蛋白是血红蛋白 β 链N末端缬氨酸的游离氨基与不同碳水化合物糖基化而形成的产物, 合成过程缓慢且相对不可逆。因此, 糖化血红蛋白可反映出机体1-2个月前的平均血糖水平, 并且不受日常葡萄糖水平波动, 是糖尿病诊断的标准之一^[4]。2002年, 美国糖尿病协会将检测糖化血

红蛋白(HbA1c)作为监测糖尿病血糖控制的金标准。临床检测糖化血红蛋白基准范围为5%至20%,4%至6.4%认为正常,6.5%以上需要进行糖尿病确诊检查^[5],因此糖化血红蛋白水平的检测对于糖尿病的预防及长期控制糖尿病患者血糖状态至关重要^[6]。

目前测定糖化血红蛋白水平有若干方法,包括电泳,离子交换色谱法,高效液相离子交换层析(HPLC),硼酸亲和层析,免疫分析,和液相色谱-串联质谱分析(LC-MS/MS),生物传感器等等,其中,HPLC已被国际临床化学和实验医学联合会(IFCC)作为检测糖化血红蛋白的标准参考方法之一。

本文将采用一种新的分离方法,毛细管等电聚焦凝胶电泳(cIEF)分离检测HbA1c,确定糖化血红蛋白比率。20 mmol/L NaOH(阴极电解液)和20 mmol/L H₂SO₄(阳极电解液)形成稳定的pH梯度^[7],含两性电解质的聚丙烯酰胺凝胶可使凝胶毛细管等电聚焦电泳(Gel-cIEF)在窄PH梯度下^[8],对血红蛋白有显著的分选,直接进行微型毛细管等电聚焦电泳^{[9][10]},分离血红蛋白^[11],获得糖化血红蛋白比率。并与高效液相离子交换层析(HPLC)法进行比较。Gel-cIEF方法不受变异体影响,且特异性好,可作为HPLC的一种替代方法应用于糖化血红蛋白的标准检测,为糖化血红蛋白的快速检测提供了一个新的可靠的方法

1 材料与方法

1.1 原料

1.1.1 实验标本

血液样品由上海瑞金医院提供,随机挑选已确诊的糖尿病病人30人,健康志愿者16人,抽取2 mL静脉血,标本中加入1.5 mg/mL EDTA-K抗凝,并在采集后12 h内进行检测;同时随机挑选已检测到含有蛋白变异体E的血液样品7例。血样样品的采集及分析均符合操作标准和医院伦理条例

1.1.2 主要仪器设备

丙烯酰胺(超级纯>99.9%)购自阿拉丁试剂公司(上海);N,N-亚甲基双丙烯酰胺,过硫酸铵(APS)和N,N,N',N'-四甲基乙二胺(TEMED)购自Sigma公司;Bio-Lyte pH6-8载体两性电解质购自Bio-Rad公司;HPLC法使用的是Bio-Rad的配套试剂:全血灌注液(REF 270-0350**),洗脱缓冲液A(REF 270-2110NU**),洗脱缓冲液B(REF 270-2111NU**),清洗液(REF 270-2112NU**),分析柱(REF 270-2113NU**),校准品/稀释液组合(REF

270-2115NU**)及质控品(REF 740),质控品包括HbA1c高(9.6%)、低(5.1%)值水平的全血溶解冻干品,对整个检测全程进行质控,含色谱分析软件参数的CD光盘(REF 270-2114NU**)。

1.1.3 主要仪器设备

Bio-Rad公司全自动糖化血红蛋白分析仪VariantII;无聚合物涂层石英毛细管(内径600 μm,外径1200 μm)购于瑞普有限公司(河北);szx7立体显微镜的集成系统(Olympus,日本)和EXCCD(Touptek,中国);电源(DYY-4C)购于北京六一科学仪器厂)

1.2 方法

1.2.1 凝胶毛细管等电聚焦(Gel-cIEF)方法测定

1.2.1.1 血液样品的前处理

将随机血液样品4℃,2000 r/min离心10 min后,除去血浆。用等渗盐水(0.9%生理盐水)洗涤三次;加等体积的超纯水和0.4 mL四氯化碳去除膜碎片;4℃,9000 r/min离心10 min,四氯化碳萃取分层,由上至下分别为血红蛋白的水溶液,四氯化碳层,脂溶性物质的沉淀层,红细胞破碎物沉淀;吸取上清血红蛋白溶液,一氧化碳饱和,防止血红蛋白氧化。

1.2.1.2 凝胶毛细管等电聚焦分离血红蛋白

采用实验室自主研发的小型化毛细管阵列装置分离血红蛋白。利用直接灌入含2% Bio-lyte PH6-8两性电解质的聚丙烯酰胺凝胶(5% T, 4% C)的毛细管作为样品的分离通道。每根毛细管加载样品2 μL;20 mmol/L NaOH为阴极电解液、20 mmol/L H₂SO₄为阳极电解液;电压60 V/cm 2 min,100 V/cm 2 min,150 V/cm 2 min,恒定电压400 V/cm 2min;在紫外吸收峰415 nm处检测各血红蛋白成分。获取分离图像,毛细管电泳仪数据处理软件进行峰处理最终确定HbA1c值。

1.2.2 高效液相色谱(HPLC)方法测定

糖化血红蛋白分析仪VariantII采用高效液相色谱法(HPLC)的工作原理。首先用Bio-Rad公司的VariantII糖化血红蛋白分析仪配套校准品(REF 270-2115NU**)及HbA1c高、低值水平质控品(REF 740)校正仪器,然后测定样品中的HbA1c值。抗凝全血标本放置于试管架上,样品在VariantII的样本仓(VSS)自动混合和稀释后(5 μL血液样品由VariantII配套稀释液稀释到1.5 mL),注入分析柱。VariantII色谱仓(VCS)的双泵将预先设置的递增的离子浓度的缓冲液注入分析柱,血红蛋白通过与柱中填料离子

间的相互作用而分离。分离的血红蛋白随后通过流动池,用 415 nm 滤光片测量各个血红蛋白成分,690 nm 的滤光片校准背景吸收。VariantII 临床数据管理 (CDMTM)软件分析。每个样本的分析时间为 3 min。

1.2.3 统计学处理

SPSS17.1 统计软件对高效液相色谱法及毛细管等电聚焦方法分离所测结果(同一样品三次重复检测)进行分析,以高效液相色谱法测定值为 X,毛细管等电聚焦方法测定值为 Y,比较方法计算线性回归方程 $Y=a+bX$ 及 r 值。

1.2.4 血红蛋白变异体 HbE 干扰影响测试

HPLC 方法易受血红蛋白变异体干扰,从而使糖化血红蛋白检测值出现偏差,糖化血红蛋白分析仪 VariantII 检测糖化血红蛋白时,含有血红蛋白变异体 S 的样品, HbA1c 的检测值明显升高;含有血红蛋白变异体 E 的样品, HbA1c 的检测值显著降低。本实验从上海瑞金医院随机挑选已确定含有 HbE 的 6 例血液样品(血液样品的采集及分析均符合操作标准和医院伦理条例),检测凝胶毛细管等电聚焦方法是否受血红蛋白变异体的干扰。

2 结果与讨论

2.1 Gel-cIEF 与 HPLC 的相关性分析

分别将 46 个样本进行平行测定,通过 SPSS17.1 统计软件将两种方法测定 HbA1c 的平均值及相对标准偏差进行统计处理,表 1 结果显示 IEF 与高效液相色谱法对同一例样本多次测定(每个样品三个平行,三次检测)的 HbA1c 值的标准偏差(RSD)和平均值,表 1 表明高效液相色谱法测定 RSD 值均在 0.90%~1.10%之间,批间变异系数均小于 1.5%;毛细管等电聚焦法对同一例样本多次测定的 HbA1c 值的相对标准偏差(RSD)均在 1.10%~1.30%之间,批内变异系数小于 1.50%,批间变异系数均小于 3.88%,精密度合格。

同时比较两种方法相关性的:设高效液相色谱法测定值为 X,凝胶毛细管等电聚焦方法测定值为 Y,进行线性回归分析,得到的线性回归方程为 $Y=0.8493X+18.248$, $r^2=0.9732$, $r^2>0.97$, $P<0.0001$,说明两种方法在血红蛋白 HbA1c 4.5-12.4% 范围内为线性关系,相关性良好(图 1)。

Gel-cIEF(毛细管等电聚焦法)分离血红蛋白,将 2 μ L 处理后的样品加入含有 2% Bio-lyte PH6-8 两性电解质的聚丙烯酰胺凝胶的毛细管中(内径 600 μ m,外径 1200 μ m,长 30 mm),以 20 mmol/L NaOH

作为阴极电解液,20 mmol/L 硫酸作为阳极电解液,电泳 8 分钟后;结果显示编号 06 血液样品毛细管等电聚焦阵列图(图 2a),由左至右,分别为阴极端到阳极端,条带分别为非糖化血红蛋白(HbA0),糖化血红蛋白(HbA1c),血红蛋白 A3(HbA3)^[11], ΔpI 为 0.3 的 HbA0 ($pI=7.1$) 与 HbA1c ($pI=6.8$) 在内径 600 μ m 空间内明显分离;数据处理软件处理数据所得图谱,图 2b 所示在 4~5 mm 蓝色区域为糖化血红蛋白峰根据实验室自开发软件使用指数修正高斯(EMG)运算法则计算峰面积,最终比率为 22.57% (编号 06)。

平行样品同时在糖化血红蛋白分析仪 VariantII 上进行检测,图 3 为 HPLC 检测结果色谱图,结果所示在 0.96 min 附近出现的为糖化血红蛋白蛋白峰,使用指数修正高斯(EMG)运算法则计算峰面积,通过 HPLC 色谱分析软件(CDMTM)分析, HbA1c 最终比率为 5.1% (表 2)。

表 1 凝胶毛细管等电聚焦方法与高效液相色谱法两种方法检测 HbA1c 值的描述性统计

Table 1 Descriptive statistics for HbA1c values determined by Gel-cIEF and HPLC

编号	HPLC 测定平均值/% (标准偏差/%)	cIEF 测定平均值/% (标准偏差/%)
01	4.5 (0.06)	21.92 (0.28)
02	4.6 (0.06)	22.13 (0.28)
03	4.8 (0.06)	22.25 (0.28)
04	5.0 (0.06)	22.35 (0.28)
05	5.0 (0.06)	22.45 (0.28)
06	5.1 (0.06)	22.57 (0.28)
07	5.2 (0.07)	22.62 (0.28)
08	5.6 (0.07)	22.82 (0.32)
09	5.8 (0.07)	22.81 (0.32)
10	6.0 (0.07)	22.90 (0.32)
11	6.0 (0.07)	22.92 (0.28)
12	6.1 (0.07)	22.93 (0.28)
13	6.3 (0.07)	23.25 (0.28)
14	6.3 (0.07)	23.13 (0.28)
15	6.4 (0.07)	23.49 (0.28)
16	6.4 (0.07)	23.55 (0.28)
17	6.5 (0.07)	23.85 (0.28)
18	6.5 (0.07)	23.90 (0.28)
19	6.5 (0.07)	23.98 (0.28)
20	6.6 (0.08)	24.15 (0.28)
21	6.6 (0.08)	24.20 (0.28)

转下页

接上页

22	6.8 (0.08)	24.43 (0.28)
23	7.0 (0.08)	24.63 (0.28)
24	7.3 (0.08)	24.82 (0.28)
25	7.5 (0.08)	25.05 (0.28)
26	7.8 (0.08)	24.60 (0.28)
27	8.0 (0.09)	25.58 (0.28)
28	8.4 (0.09)	25.78 (0.28)
29	8.5 (0.09)	25.83 (0.28)
30	8.8 (0.09)	25.98 (0.28)
31	9.0 (0.09)	26.19 (0.32)
32	9.2 (0.09)	26.33 (0.32)
33	9.4 (0.09)	26.58 (0.32)
34	9.5 (0.09)	26.55 (0.32)
35	9.8 (0.09)	26.58 (0.32)
36	10.0 (0.11)	26.72 (0.32)
37	10.2 (0.11)	26.83 (0.32)
38	10.6 (0.11)	26.99 (0.32)
39	10.8 (0.11)	26.97 (0.32)
40	11.2 (0.11)	27.21 (0.35)
41	11.4 (0.12)	27.46 (0.35)
42	11.8 (0.12)	27.82 (0.35)
43	12.0 (0.12)	27.98 (0.35)
44	12.1 (0.12)	28.13 (0.35)
45	12.2 (0.12)	28.69 (0.35)
46	12.4 (0.12)	29.25 (0.35)

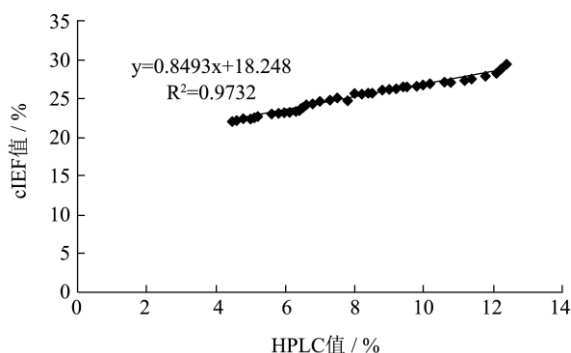


图1 凝胶毛细管等电聚焦方法与高效液相色谱法两种方法测定HbA1c的线性回归图

Fig.1 Linear regression plot for Gel-cIEF and HPLC determinations of HbA1c

2.2 血红蛋白变异体HbE对cIEF及HPLC测定

糖化血红蛋白的影响

HPLC方法具有检测准确率高,重复性良好的优点,但是易受血红蛋白变异体的影响,如血红蛋白β

链第26位谷氨酸被赖氨酸取代的血红蛋白变异体HbE。

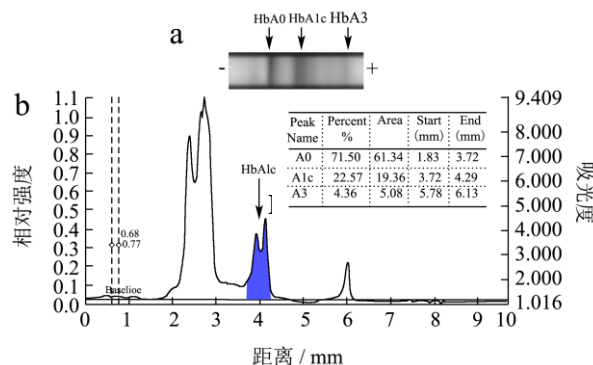


图2 凝胶毛细管等电聚焦分离检测样品编号06含5.1%糖化血红蛋白

Fig.2 No.6 Hb sample with a HbA1c value of 5.1% detected by Gel-cIEF

注: a.毛细管等电聚焦阵列图; b.凝胶毛细管等电聚焦检测糖化血红蛋白蛋白峰图。

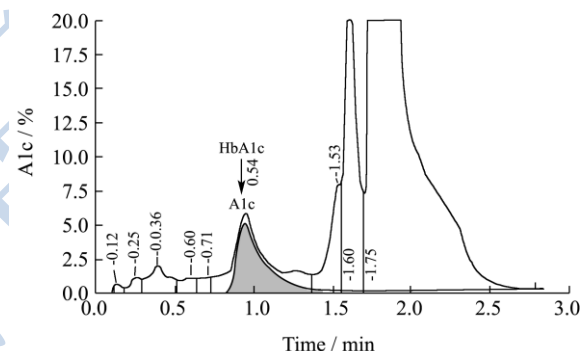


图3 高效液相离子交换层析检测平行血样样品(编号06)的色谱图

Fig.3 Chromatogram of parallel Hb sample detected by HPLC(No.6)

表2 高效液相离子交换层析色谱分析软件分析图3色谱图各蛋白峰的对应该数据

Table 2 Values of each protein peak in Figure 3 analyzed by HPLC CDMTM software

Peak Name	NGSP /%	Area /%	Retention Time /min	Peak Area
A1a	-	0.2	0.13	2006
A1b	-	0.4	0.25	4506
Unknown	-	1.0	0.38	12631
F	-	0.3	0.60	5548
LA1c	-	0.3	0.71	3837
A1c	5.1*	-	0.96	44210
P3	-	2.3	1.53	74373
P4	-	5.9	1.60	48880
A0	-	86.1	1.75	1083002

分别用 HPLC 及 Gel-cIEF 法将上海瑞金医院随机挑选确定含 HbE 的 6 例血样样品进行平行测定, 统计分析两种方法测定的 HbA1c 平均值及相对标准偏差 (表 3), 结果表明: 相对于糖化血红蛋白的标准值, HPLC 方法受血红蛋白变异体 HbE 的干扰, 糖化血红蛋白检测值显著降低, 而 Gel-cIEF 没有受到血红蛋白变异体 HbE 的干扰影响, 数值测定准确; HbA1c 实际值由瑞金医院通过免疫比浊法测定所得。

含有蛋白变异体的 HE-01 样品通过凝胶毛细管等电聚焦分离检测, 图 4 显示了 Gel-cIEF 分离检测 HbA1c 蛋白峰图, 峰图中所示在 4~5 mm 蓝色区域为糖化血红蛋白蛋白峰, HbA1c 测量值为 22.10%。通过相关性回归方程 $Y=0.8493X+18.248$, 计算得出 HbA1c

值为 4.54%, 与 HPLC 检测结果 (1.9%) 相比具有显著差异, 但与实际 HbA1c 数值 (4.5%) 相符。

图 5 显示了糖化血红蛋白分析仪 VariantII 分离检测含有血红蛋白变异体 HbE 平行样品(编号为 HE-01) 的 HbA1c 色谱图, 表 4 显示 HbA1c 测量结果为 1.9%, 远低于 HbA1c 的理论标准值, 由瑞金医院通过免疫比浊法测定, 编号为 HE-01 样品的实际值为 4.5%。

由此, 血红蛋白变异体 HbE 的存在明显影响了 HPLC 方法检测 HbA1c 测定值; 而同样的平行样品通过凝胶毛细管等电聚焦电泳 (Gel-cIEF) 的分离检测, 其不受血红蛋白变异体的干扰, 提高了血红蛋白分离的特异性及准确度。

表 3 HPLC 及 Gel-cIEF 检测含有血红蛋白变异体 HbE 样品糖化血红蛋白结果的描述性统计

Table 3 Results and descriptive statistics of HbA1c determination from Hb samples including hemoglobin variant HbE by HPLC and

样品编号	HPLC 测定平均值/% (标准偏差/%)	Gel-cIEF methods		HbA1c 实际值 /%
		Gel-cIEF 测定平均值/% (标准偏差/%)	回归方程规范值 /%	
HE-01	1.9(0.21)	22.10(0.28)	4.54	4.5
HE-02	4.0(0.27)	23.33(0.32)	5.98	6.0
HE-03	4.9(0.27)	23.80(0.25)	6.54	6.5
HE-04	4.5(0.27)	23.78(0.25)	6.51	6.5
HE-05	5.8(0.24)	24.40(0.28)	7.24	7.2
HE-06	6.3(0.24)	25.40(0.28)	8.43	8.4

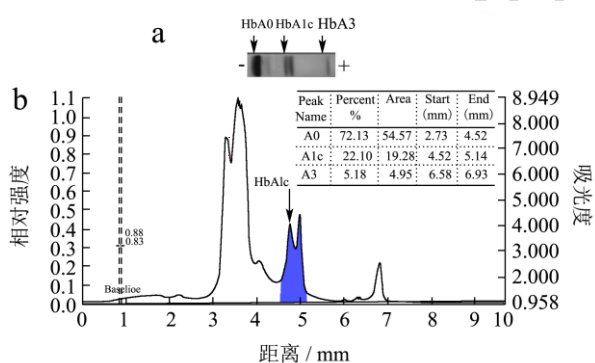


图 4 血红蛋白变异体 HbE 对 HPLC 及 Gel-cIEF 测定糖化血红蛋白的影响 (编号 HE-01)

Fig.4 Influence of hemoglobin variant HbE on the determination of glycosylated hemoglobin with Gel-cIEF (No. HE-01)

注: a: 毛细管等电聚焦阵列图; b: 凝胶毛细管等电聚焦检测糖化血红蛋白蛋白峰图。

3 结论

3.1 随着人民生活水平的不断提高, 糖尿病患者人数不断扩大, 2030 年预计将超过 3.66 亿^[1]糖尿病并发症

的危害也日益严重, 糖化血红蛋白 (HbA1c) 作为糖尿病诊断的金标准^[4], 对糖尿病患者血糖的监测和控制起着重要作用。检测糖化血红蛋白若干方法中, HPLC 具有检测准确率高, 重复性良好的优点, 已被国际临床化学和实验医学联合会 (IFCC) 作为检测糖化血红蛋白的标准参考方法之一。

3.2 本文通过测定上海瑞金医院提供的随机 46 例血样样品的 HbA1c 值, 对凝胶毛细管等电聚焦 (Gel-cIEF) 法与高效液相离子交换层析 (HPLC) 法两组测定结果进行相关性分析, 结果显示两者相关性良好, $r^2=0.9732$, $r^2>0.97$, 且均有较好的精密性, 即凝胶毛细管等电聚焦检测结果可接受。另外美国糖尿病协会 (ADA) 将临床检测糖化血红蛋白基准范围定为 5% 至 20%, 4% 至 6.4% 认为正常, HbA1c 值 $\geq 6.5\%$ 诊断为糖尿病; 所以现阶段我们实验室正在致力于修正数据处理软件程序, 转化 Gel-cIEF 法检测值, 使其标定在国际规范范围内。

3.3 HPLC 方法检测 HbA1c 的特异性在 68%~76%^[12], 且 HPLC 在分离检测 HbA1c 中易受血红蛋白变异体 (如血红蛋白 E、C、D 等) 的干扰, 导致 HbA1c

测定值偏低或偏高^[13]。本实验研究表明血红蛋白变异体 HbE 的存在明显降低了 HPLC 方法检测 HbA1c 测定值；同样的平行样品通过凝胶毛细管等电聚焦电泳 (Gel-cIEF) 分离检测，不受血红蛋白变异体 HbE 的干扰，提高了 HbA1c 检测的特异性及准确度。

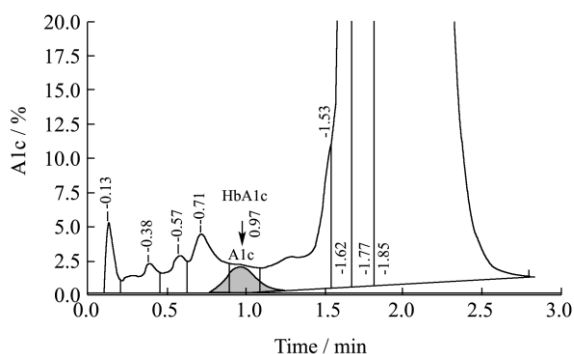


图 5 平行样品中血红蛋白变异体 HbE 干扰的 HPLC 检测糖化血红蛋白白色谱图 (编号 HE-01)

Fig.5 Chromatogram of HbA1c detected by HPLC with influence of hemoglobin variant HbE in the parallel Hb sample

表 4 高效液相离子交换层析色谱分析软件分析图 5 色谱图中各蛋白峰的对应数据

Table 4 Values of each protein peak in Figure 5 analyzed by

HPLC CDMTM software				
Peak Name	NGSP /%	Area /%	Retention Time/min	Peak Area
A1a	-	0.3	0.13	4033
Unknown	-	0.4	0.38	5330
F	-	0.3	0.57	4576
LA1c	-	0.7	0.71	9862
A1c	1.9*	-	0.97	5102
P3	-	1.2	1.53	17201
P4	-	3.5	1.62	48880
A0	-	30.5	1.77	431833
E,D	-	62.8	1.85	887582

3.4 糖化血红蛋白 (HbA1c) 作为糖尿病诊断的标准方法,其浓度的微小变化将会影响糖尿病的临床治疗。所以具有检测快速,不受血红蛋白变异体 HbE 干扰,特异性高等诸多优点的凝胶毛细管等电聚焦电泳 (Gel-cIEF) 方法可作为 HPLC 的替代方法用于糖化血红蛋白的标准检测之一,将为实验室及临床快速检测糖化血红蛋白做出重大贡献。

参考文献

[1] Morridani MY, Verjee Z, Allen LC. Analytical evaluation of hemoglobin A1c dual kit assay on Bio-Rad VariantII: an automated HPLC hemoglobin analyzer for the management

of diabetic patients [J]. Clin Biochem, 2003, 36(4): 317-320

[2] Goodarz Danaei, Mariel M Finucane, Yuan Lu. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants [J]. The Lancet, 2011, 378(9785): 31-40

[3] W G John. Haemoglobin A1c reference method [J]. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 2006, 66(1): 1-4

[4] John, W Garry. Haemoglobin A_{1c}: analysis and standardization [J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2003, 4(9): 1199-1212

[5] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010 [J]. Diabetes Care, 2010,33 (Supplement 1): S11-S61

[6] Jan-Olof Jeppsson, Uwe Kobold, John Barr, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood [J]. Clin. Chem. Lab. Med, 2002, 40 (1): 78-89

[7] Cheng-Xi Cao,Liu-Yin Fan,Wei Zhang. Review on the theory of moving reaction boundary, electromigration reaction methods and applications in isoelectric focusing and sample pre-concentration [J]. Analyst, 2008, 9(133):1139-1157

[8] Dušan Koval, Václav Kašička, Hervé Cottet. Analysis of glycosylated hemoglobin A1c by capillary electrophoresis and capillary isoelectric focusing [J]. Anal. Biochem., 2011, 413 (1): 8-15

[9] Si Li, Jing-Yu Dong, Chen-Gang Guo, et al. A stable and high-resolution isoelectric focusing capillary array device for micropreparative separation of proteins [J]. Talanta, 2013, 15(116): 259-265

[10] Si Li, Chen-Gang Guo, Lu Chen, et al, Impact of glutathione-HbA1c on HbA1c measurement in diabetes diagnosis via array isoelectric focusing, liquid chromatography, mass spectrometry and ELISA [J]. Talanta, 2013, 15(115): 323-328

[11] Monica Conti, Cecilia Gelf, Adriana Bianchi Bosisio, et al. Quantitation of glycosylated hemoglobins in human adult blood by capillary isoelectric focusing [J]. Electrophoresis, 1996, 17(10): 1590-1596

[12] Chandra Shekhar Pundir, Sheetal Chawla. Determination of glycosylated hemoglobin with special emphasis on biosensing methods [J]. Analytical Biochemistry, 2014, 444(1):47-56

[13] Lorenzo-Medina M, De-La-Iglesia S, Ropero P, et al. Effects of hemoglobin variants on hemoglobin a1c values measured using a high-performance liquid chromatography method [J].

现代食品科技