

Methods for Detection of Glycosylated Hemoglobin

Zongli Huang, Zhirong Gan, Wan Lan, Jiating Hou, Xiaozhen Feng, Guocheng Han*

College of Life and Environmental Sciences, Guilin University of Electronic Technology, Guilin Guangxi
Email: hancg81@guet.edu.cn

Received: Jul. 3rd, 2017; accepted: Jul. 28th, 2017; published: Jul. 31st, 2017

Abstract

Diabetes mellitus is one of the highest morbidity in the world. At present, the detection of glycosylated hemoglobin has become the standard diagnostic method of diabetes monitoring. Hemoglobin plays an important role in human body, as a macromolecular protein which is mainly responsible for carrying oxygen. And the combination of high blood glucose in patients with diabetes will induce glucose and hemoglobin in HbA1c generation function, blood oxygen capacity, so the determination of glycosylated hemoglobin in blood shows great significance. There are more than 30 methods used for the determination of glycosylated hemoglobin in clinical laboratories. According to the principle of the reaction, which can be divided into two categories, the first category is based on the different charge of GHb and non GHb, including ion exchange chromatography, electrophoresis, isoelectric focusing, etc. The second category is based on the structural characteristics of GHb, including affinity chromatography, ion capture, immunization, etc. This article overviewed detection methods of glycosylated hemoglobin in clinical practice.

Keywords

Diabetes Mellitus, Standard Diagnostic, Hemoglobin, Glycosylated Hemoglobin, Detection

糖化血红蛋白的检测方法

黄宗利, 甘志荣, 兰 万, 侯嘉婷, 冯小珍, 韩国成*

桂林电子科技大学生命与环境科学学院, 广西 桂林
Email: hancg81@guet.edu.cn

收稿日期: 2017年7月3日; 录用日期: 2017年7月28日; 发布日期: 2017年7月31日

*通讯作者。

摘要

糖尿病是世界上发病率最高的疾病之一。目前,检测糖化血红蛋白已经成为糖尿病监控的标准诊断方法。血红蛋白在人体中承担着重要作用,是主要担负着运载氧的功能的大分子蛋白质,糖尿病患者过高的血糖会诱使葡萄糖和血红蛋白结合,生成没有功能的糖化血红蛋白,影响血液的输氧能力,因此血液中的糖化血红蛋白的检测意义重大。临床实验室常用的测定糖化血红蛋白的方法有30多种,根据反应原理的不同可分为两大类:第一类基于GHb与非GHb的电荷不同,包括离子交换色谱法、电泳法、等电聚焦法等;第二类基于GHb的结构特点,包括亲和色谱法、离子捕获法、免疫法等。本文主要对临床常用的糖化血红蛋白检测方法进行了综述。

关键词

糖尿病, 标准诊断, 血红蛋白, 糖化血红蛋白, 检测

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

糖尿病是世界上发病率最高的疾病之一,仅次于心脑血管疾病和肿瘤,并且其发病率还在不断的上升,它是一种由于胰岛素分泌缺陷或胰岛素作用障碍所导致的以高血糖为特征的代谢性疾病。持续高血糖与长期代谢紊乱等可导致全身组织器官受损,特别是眼、肾、心血管及神经系统的损害及其功能障碍和衰竭,是严重威胁人类健康的世界性公共卫生问题。血糖、葡萄糖耐量实验(OGTT)是国际公认的诊断糖尿病的诊断标准,2010年美国糖尿病协会(ADA)又将糖化血红蛋白(HbA1c)纳入了糖尿病的诊断标准[1]。血红蛋白是由血红素和球蛋白组成的球形大分子化合物,作为红细胞内的一种机能蛋白,在生物体内起到传输氧气、传递电子等功能,与氧和能量代谢有关的重要活动。血红蛋白的研究主要集中在其结构、输氧功能,以及蛋白质分子与电极之间电子转移过程的机理等方面。糖尿病患者过高的血糖会使得葡萄糖和血红蛋白结合,生成没有功能的糖化血红蛋白,从而影响血液的输氧能力。一般糖尿病患者若病情控制不稳,往往会引起血糖的波动,有时极高,有时又较低,甚至发生低血糖。而糖化血红蛋白则反映一段时间内病人血糖的总体控制情况,因此人体血液和尿液中的血红蛋白的测定是临床检测的一个重要内容。

糖化血红蛋白(Glycated Hemoglobin, 简称 GHb)是由红细胞中血红蛋白与葡萄糖经非酶促糖化缓慢形成的,该反应持续且不可逆,形成两周后不易分开。GHb的体内合成受红细胞中葡萄糖浓度的影响,在正常的生理条件下,非酶促糖化反应产物生成量与反应物浓度成正比,当血液中葡萄糖浓度较高时,人体所形成糖化血红蛋白的含量也会相对较高。由于蛋白质浓度相对稳定,糖化水平主要取决于葡萄糖的浓度,同时与蛋白质和葡萄糖接触的时间长短也有关。人体内红细胞的生命周期一般为120天,在红细胞死亡之前,血液中糖化血红蛋白含量是保持相对不变的,因此糖化血红蛋白水平可以反映前120天内的平均血糖水平,而与病人抽血时间,是否空腹,是否使用胰岛素等因素无关,是判定糖尿病长期控制的重要指标。HbA1c是评价血糖控制好坏的重要标准,它是血液中和葡萄糖结合了的那一部分血红蛋白,约占糖化血红蛋白的65%左右,结构稳定。因此,糖化血红蛋白的检测对于糖尿病的监测来说具有

一定的说服力、稳定性也较好，它能反映糖尿病患者 2 到 3 个月以内血糖的控制情况，在糖尿病学上有很大的临床参考价值[2] [3]。

糖化血红蛋白的增高会对人体有多方面影响，它会加剧心、脑血管疾病、导致肾病等[4]，所以，无论是早期筛查，还是在患病期间的监控，对糖化血红蛋白进行检测具有重大的实际意义。因此，糖化血红蛋白最终成为糖尿病众多检测标准中的“金标准”[5]，并且在国际上已经达到大家的一致认可。

2. 糖化血红蛋白的检测

2.1. 血红蛋白的检测

糖化血红蛋白是红细胞中血红蛋白与葡萄糖经非酶促的不可逆反映的产物，主要是通过血红蛋白 β 链 N-末端的缬氨酸被糖化而形成的，因此血红蛋白的测定是一个重要内容。目前，随着检验技术的飞速发展和医疗器械的不断改进，血红蛋白含量检测方法主要有以下几种测定方法。

1) 比重法[6]：它是测定血红蛋白最原始的方法，通过血滴在水中的比重变化来推算是否贫血，该方法不需要特定的设备，操作简单，但准确度低，没有准确的文字描述，不适合推广。

2) 比色法[7]：主要包括① 氰化高铁血红蛋白(HiCN)测定法[8]：该法 1966 年被国际血液学标准化委员会(ICSH) [9]和世界卫生组织(WHO)推荐为国际标准参考方法，操作简单，显色快，结果可靠稳定，读取吸光度后可直接定值，但此法试剂中氰化钾(KCN)有剧毒，使用管理不当可能造成公害。② 氧合血红蛋白测定法：虽然该法试剂处理安全，但其缺点是不能将高铁血红蛋白转化为氧合血红蛋白，同时，该法受仪器等外界因素影响较大，使其应用受到了限制。③ 十二烷基月桂酰硫酸钠血红蛋白(SLS-Hb)法：该法操作简单，呈色稳定，准确性和精确性较好，并且无公害。但 SDS 质量差异较大，且 SDS 可破坏白细胞，摩尔系数尚未最后确认不能直接用吸光度计算 Hb 浓度。

3) 分光光度法[10]：此法可以反映血红蛋白含量情况，因其试剂、仪器干扰因素比较多，测定时存在一定误差，但该方法简便易行，基层卫生所、乡镇卫生院、实验室单个检测用，缺点：不利于普查。

4) 库尔特电阻抗法：该法较比重法、比色法测定结果精确可靠，而比分光光度法等实验室技术成本、难度高、安全无创伤，适用于大型医院。它的操作简单易行，对儿童、老人、病人等测定血红蛋白更为实用。缺点：一般家庭不能普遍使用，试剂条费用比较高，应用仍有局限性。

5) 电化学分析检测法：此法具有快速、不破坏样品、易于自动化等优点，主要包括① 裸银电极[11]：它在测定血红蛋白时大多用促进剂来活化蛋白质氧化还原中心，进而改善蛋白质在电极表面的直接电子转移，提高可靠性。② 修饰银电极：卡托普利[12]通过分子中的硫原子修饰到银电极表面，对血红蛋白的电催化行为进行了研究，建立了一种简单、快速、干扰性小的测定人体血液中血红蛋白含量的新方法，取得了较好的结果。③ 染料修饰玻碳电极[13] [14] [15]：用于研究血红蛋白在电极上的电催化行为，是发展最快、检测效果最好、研究最多的一种修饰电极，在检测中多采用三电极工作体系，电极稳定性好、寿命长，是电化学分析检测血红蛋白比较理想的方法。

以各种染料作为媒介体的修饰电极对血红蛋白的电化学性质进行了研究。这些染料主要起到在电极上与血红蛋白之间传递电子的作用，多具有氧化还原活性，其在电极上的固定方法有吸附、共价桥联、聚合或电沉积，已用的基体电极有玻碳、石墨、碳糊、碳纤维、铂、银电极等。Brett [16]等人用亚甲蓝吸附于石墨电极表面用于流动体系中血红蛋白和肌红蛋白的测定。Yang [17]等人将甲苯胺蓝等染料吸附在石墨电极表面制成相应的修饰电极对血红蛋白的电化学性质进行了研究，如在甲苯胺蓝修饰石墨电极上可以催化血红蛋白的还原，血红蛋白的加入使甲苯胺蓝的还原峰不断增加，其氧化峰相应的减小，其原因在于扩散至电极表面的血红蛋白能与电极反应生成的还原态甲苯胺蓝发生化学反应而被催化还原，甲苯胺蓝被氧化再生，使电极反应生成的甲苯胺蓝还原态量相应的减少，电位反扫时氧化峰电流下降。

用吸附法制备染料电极方法简单、易于操作，但随着实验时间的延长，部分染料分子会从电极表面脱落而降低电极活性。Zhao [18]等人则利用 1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐/Nafion 修饰微柱碳纤维电极对 Hb 的电化学性质进行了研究，利用 Nafion 膜将 1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐固定在碳微电极的表面，降低了媒介体的传质速率，大大提高了微电极的电催化效率和使用寿命，在中性介质中有效的加速 Hb 的氧化，可用于人血清中血红蛋白含量的测定。

上世纪 50 年代以来，二茂铁(Ferrocene, Fc)的稳定性、结构和成键状况的独特性引发了科学家们的浓厚兴趣，有关二茂铁及其衍生物的合成、结构及性能的研究成为现代化学中的一个热点。二茂铁具有夹心结构和芳香性的高度富电子特性，具有易受环境影响的可逆氧化还原特点。利用二茂铁基团可逆的氧化还原性，使得控制其衍生物的电光学性成为可能，从而实现氧化还原的开关效应，这类氧化还原开关材料在电致变色、光电记忆和光通讯领域具有良好的应用前景；而且随着生物医药技术的发展，二茂铁及其衍生物被广泛应用在生物学、医学、微生物学等领域。已有报道称二茂铁可标记 DNA [19]和蛋白质 [20]作为电化学探针，应用于特定序列 DNA 片段的识别、检测和 DNA 的损伤与保护的研究。二茂铁作为电化学探针用于血红蛋白的检测也有报道，Scheller [21]等人用二茂铁硼酸做为电化学探针绑定糖基的 N 端，在溴化双十二烷基二甲基铵(DDAB)作为促进剂的情况下，检测糖化血红蛋白，在 0.299 V (Vs. SCE)有可逆的氧化还原峰。Tanaka [22]等人用二茂铁甲酸标记血红蛋白的抗体，通过电化学方法检测血红蛋白，在 0.35 V (Vs.SCE)出现可逆的氧化还原峰。在前人工作的指导下，以二茂铁为电化学探针，合成含有巯基的二茂铁衍生物[23]。重点考察几种二茂铁衍生物和血红素是否有分子间的相互作用。通过紫外-可见光谱法研究了二茂铁衍生物和血红素相互作用情况，实验结果表明二茂铁衍生物不仅具有良好电化学性质，而且是生物活性分子，在溶液中可与血红素相互作用[24]。因此，通过二茂铁衍生物等小分子，可以用简单的电化学方法和光谱法，从分子层面上研究二茂铁衍生物与血红素的作用。此外，血红素可在电化学传感器中起很重要的电子传递作用[25]。

在上述工作的基础上，通过电沉积法和溶液挥发法将含有巯基的二茂铁衍生物通过 Au-S 固定在金电极上，通过 DPV 法和 EIS 法获得电流差值与血红蛋白浓度满足的线性方程，计算相关系数和检测限，实现未知浓度血红蛋白的电化学方法检测。在此过程中，通过自组装[26]的方法制备了无标记阻抗型 CRP 免疫传感器，对苯二甲醛缩邻氨基苯硫酚席夫碱镍配合物修饰纳米金为电化学探针，利用交流阻抗技术，建立了测定 Ab-CRP 含量的新方法[27]。将小分子多肽 SGFPRGRYC 偶联在二茂铁上，形成 Fc-SGFPRGRYC，并通过 Au-S 键固定在裸金电极上，在凝血酶的作用下，对小分子多肽进行切割，形成 Fc-SGFPR 和 GRYC 片段，在这个过程中会伴随着电化学信号的改变，通过电化学-化学-化学氧化还原循环法实现电化学信号的放大，从而提高蛋白酶检测的灵敏度[28]。电化学和荧光方面的研究结果[29] [30]可对糖化血红蛋白的灵敏检测提供指导。

2.2. 测定糖化血红蛋白的方法及其影响因素

目前临床实验室中应用的糖化血红蛋白检测方法主要有两大类：一类方法基于糖化血红蛋白与非糖化血红蛋白所带的电荷不同，如离子交换层析法、电泳法等方法；另一类方法基于血红蛋白上糖化基团的结构特点，如亲和层析、离子捕获法和免疫法等。

2.2.1. 离子交换色谱法

此法主要包含有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC) [31]和手工微柱法。离子交换 HPLC 法是目前分析检测 HbA1c 的“金标准”，可通过血红蛋白 β 链 N-末端缬氨酸糖化作用产生不同电荷产物，制造中性 pH 环境，HbA1c 所携带正电荷数量相对较少，以离子交换层析法进行处理，将其与 HbS、HbF 等分离处理。此法多使用 Bio-Rad 的 D-10 设备完成检测分析，所得结果准确度高、

可重复性良好。此种检测方式所需仪器昂贵，其中的微柱法需人工操作，且操作步骤繁琐，难以控制微柱质量及层析反应时间，容易出现操作和技术误差而影响检测结果的准确度与可靠性。另外，此种检测技术没有很好的可重复性，检测结果容易受到 pH、环境温度等众多因素干扰而出现偏差，且需仔细辨别检测中的图谱，以免因变异 Hb、HbF 等指标干扰微柱分离能力[32] [33]。

2.2.2. 琼脂凝胶电泳法[34]

检测原理根据血红蛋白的不同结构所带的电荷情况不同，在琼脂糖凝胶上的电泳迁移速度也不同，Hb 及 HbA1 带正电荷，电泳时向负极移动。因为 HbA 的 β 链 N-末端所带电荷被糖基消除，带电量少，等电点低，迁移速度慢，HbA1 本身带红色，可直接比色或扫描，从而达到分离的目的。普通电泳法对 HbA 和 HbA1 分离效果不理想，而毛细管电泳能够分离检测糖化血红蛋白和血红蛋白的变异体。目前还没有具有批量样本通过能力的仪器，在一定程度上限制了该方法的临床应用。

2.2.3. 等电点聚集法

检测原理是在含有载体的两性介质的薄板上形成连续稳定的 pH 线性梯度中进行电泳，血红蛋白中各组份将移动到各自的等电点 pH 位置上，然后通过分辨率高的微量光密度进行扫描分析，便可以精确的对各组份进行定量测定。由于它的分辨能力好，准确度高，可以很好的避开各种物质的干扰，是一种理想的方法，但仪器非常昂贵，难于用作常规检测。

2.2.4. 亲和层析法[35]

检测原理利用硼酸衍生物与 HbA1c 分子上的葡萄糖顺位二醇进行可逆性反应，HbA1c 通过共价结合凝胶柱，而非糖化血红蛋白会被洗脱下来，分离过后，再用高浓度含糖或含顺位二醇基的多羟基复合物将所结合的糖化血红蛋白置换下来。但是除了 HbA1c 外，血液中的其他氨基酸的糖基化血红蛋白也会与凝胶柱结合，因此亲和色谱法检测的是总糖化血红蛋白的量，并不是单一组份的含量。优点：操作过程简单、快速、准确、价格低廉、无需特殊仪器设备，其特异性强，不受异常血红蛋白的干扰。

2.2.5. 离子捕获法

又称化学发光法[36]，它是近些年发展起来的新方法，其原理是糖化血红蛋白与其相应的抗体结合后，联以荧光标记物，形成一反应复合物，通过连接带负电荷的多阴离子复合物，吸附到带有正电的纤维表面，经过一系列清洗等步骤后，测定其荧光强度，进而得到糖化血红蛋白的浓度，该方法操作简便、准确度高，适用于大量糖化血红蛋白标本的检测[37]。

2.2.6. 免疫法

该方法运用的是单克隆抗体技术，是由英国 DAKO 公司最早研究发现的，针对血红蛋白的 β 链 N-末端 8 个氨基酸糖基化的抗原位点，所研发出来的单克隆抗体，用酶免疫的原理来检测。随着不断研究已有很多检测检测方法。

1) 胶乳凝集法[38] [39]

检测原理：样本中 HbA1c 的与特异性的单克隆抗体和胶乳结合后，形复合物，并发生凝集，凝集量会由于胶乳表明所固化的 HbA1c 量的不同而不同。凝集量可用全自动生化分析仪来检测吸光度变化，求出样品中的百分含量。该糖化血红蛋白检测方法不会受异常 Hb 干扰，其特异性好，操作简便。

2) 免疫比浊法[40]

检测原理主要运用抗原、抗体反应的原理来测定。规范取血清标本后，将配制好的 HbA1c 抗体缓冲液混入受检标本内，使抗 HbA1c 抗体结合 HbA1c 产生抗原抗体复合物，之后继续加入多聚半抗原缓冲液以结合反应液中的残余抗 HbA1c 抗体产生不溶的抗原抗体复合物，以比浊法检测标本中 HbA1c 水平，

并通过另一通道检测 Hb 含量, 根据公式计算得出 HbA1c 的百分含量[41]。此种检测方式所需时间短、成本低、可重复、操作简便。但容易受交叉污染、黄疸标本及脂浊标本影响, 高于浓度标准时难以完成检测, Hb 和 HbF 变化可影响检测结果[42]。

3) 其他免疫法

放射免疫法不会受到任何因素干扰, 因而检测得出的 HbA1c 水平更加接近真实水平, 且此种检测方法适用于批量检测, 可节省成本, 有更好的特异性, 但受高效价抗体制备限制难以推广; 金标免疫渗滤法可配合床边血清检测共同完成, 准确度和特异性好, 可在短时间内得出检测结果, 方便医生和护士随时了解患者 HbA1c 水平和病情变化。

2.2.7. 酶法[43]

该方法利用果糖基缬氨酸氧化酶的反应特性, 它能够特异性的作用于糖基化的缬氨酸或其小肽, 产生 H_2O_2 ; 然后利用辣根过氧化物酶与 H_2O_2 的反应使特定的色原显色。根据这一原理, 血液样品中的血红蛋白首先被蛋白酶水解, 产生糖基化的缬氨酸或小肽, 然后在果糖基缬氨酸氧化酶和辣根过氧化物酶的作用下, 与特定的色原产生显色反应。酶法检测糖化血红蛋白操作方便、简单、不受变异血红蛋白的干扰, 还可应用于自动生化分析仪, 具有良好的重复性和特异性。另外, 利用酶法可以直接测定样品中的 HbA1c 的百分含量, 而不像别的方法, 还要同时测定样品的血红蛋白总量。该方法与 HPLC 法和免疫法相比呈良好的相关性。

3. 结论

血红蛋白是一种十分重要的生命物质, 糖化血红蛋白是血液中和葡萄糖结合了的那一部分血红蛋白, 糖化血红蛋白的增高对人体有多方面影响, 因此准确测定血红蛋白的含量和糖化血红蛋白的含量具有至关重要的作用。综上所述, 糖化血红蛋白含量测定方法到目前来说比较多, 从精确度上考虑, HPLC 是最理想的方法, 但因其价格十分昂贵, 基层医院商不能推广。目前我国多采用手工微柱法, 但是易受到诸多干扰因素的影响, 误差也较大, 该方法也不理想。而从性价比的角度来评价, 则为亲和色谱微柱法。该法精确度高, 价格也比 HPLC 低, 不容易受其他因素干扰, 还有酶法和电化学法也被广泛使用。有研究指出 HbA1c 会因年龄与种族的不同而不同, 并且年龄每增长 10 岁, 用 HPLC 法所测得的 HbA1c 百分值将增加 0.11%~0.15%。所有的检测方法都不是十分完美的, 都有着自己的缺点, 相信随着对实验 HbA1c 方法不断改进, HbA1c 检测可以在临床上广泛应用。

基金项目

大学生创新创业计划项目(201510595044, 201510595207, 201510595057)资助, 国家自然科学基金项目(61301038, 61661014)资助。

参考文献 (References)

- [1] William, T.C. (2013) Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *American Diabetes Association Diabetes Care*, 34, S62-S69.
- [2] 韩文静. 糖化血红蛋白检测及临床应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(7): 959-960.
- [3] 王笠, 李琳. 糖化血红蛋白的检测和临床应用[J]. 上海医学检验杂志, 2003, 18(2): 119-121.
- [4] 周佳烨, 吴炯. 糖化血红蛋白测定在 DM 诊断和治疗中的应用[J]. 检验医学, 2008, 25(8): 583-587.
- [5] 王东环, 陈文祥. 应注重糖化血红蛋白在糖尿病诊疗中的临床价值[J]. 中华检验学杂志, 2012, 35(6): 493-496.
- [6] 袁健. 《身体成分测定》实验综述报告[J]. 科技信息高校讲坛, 2013(9): 211.
- [7] 唐宁莉, 方业毅, 覃温露. 刚果红共振散射光谱法测定血红蛋白[J]. 分析实验室杂志, 2013(2): 102.

- [8] 张亚男. 氰化高铁血红蛋白测定法对血红蛋白测定方法及临床意义[J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(11): 48-49.
- [9] Zwart, A., Assendelft, O.W. and Brian, S.B. (1996) Recommendations for Reference Method for Hemoglobinometry in Human Blood and Specifications for International Hemoglobincyanide Standard. *Journal of Clinical Pathology*, **49**, 271-274. <https://doi.org/10.1136/jcp.49.4.271>
- [10] 方跃强, 王文娟, 陈江, 等. HemoCue 仪和临床血液分析仪测定血红蛋白结果的可比性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2010(5): 988-990.
- [11] 冶保献, 周性尧. 血红蛋白在裸银电极上的直接电化学及其分析应用[J]. 高等学校化学学报, 1996, 17(1): 33-37.
- [12] 张荣丽. 卡托普利修饰电极测定血红蛋白[J]. 徐州医学院学报, 1998, 18(3): 201-202.
- [13] 袁倬斌, 张玉忠, 赵红. 聚天青 I 玻碳修饰电极对血红蛋白催化还原[J]. 分析化学, 2001, 29(11): 1332-1335.
- [14] 张玉忠, 赵红, 袁倬斌. 大黄酸玻碳修饰电极对血红蛋白的催化还原[J]. 高等学校化学学报, 2002, 23(3): 391-393.
- [15] Liu, M.C., Li, P. and Zhang, L. (2005) Preparation of Nanosized CoHCF Modified Electrode and Its Application to Electro Analysis of Hemoglobin. *Chinese Journal of Chemistry*, **23**, 983- 989. <https://doi.org/10.1002/cjoc.200590983>
- [16] Brett, C.M.A., Inzelt, G. and Kertesz, V. (1999) Poly(Methylene Blue) Modified Electrode Sensor for Haemoglobin. *Analytica Chimica Acta*, **385**, 119-123. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00808-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00808-3)
- [17] Yang, C.H., Xu, J.H. and Hu, S.S. (2007) Development of a Novel Nitrite Amperometric Sensor Based on Poly(Toluidine Blue) Film Electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry*, **11**, 514-520. <https://doi.org/10.1007/s10008-006-0188-x>
- [18] Zhao, G.C., Xu, M.Q., Ma, J. and Wei, X.W. (2007) Direct Electrochemistry of Hemoglobin on a Room Temperature Ionic Liquid Modified Electrode and Its Electrocatalytic Activity for the Reduction of Oxygen. *Electrochemistry Communications*, **9**, 920-924. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2006.12.005>
- [19] Long, Y.T., Li, C.Z., Sutherland, T.C., Chahma, M., Lee, J.S. and Kraatz, H.B. (2003) A Comparison of Electron-Transfer Rates of Ferrocenoyl-Linked DNA. *Journal of the American Chemical Society*, **125**, 8724-8725. <https://doi.org/10.1021/ja034684x>
- [20] Beer, P.D., Davis, J.J., Drillsma-Milgrom, D.A. and Szemes, F. (2002) Anion Recognition and Redox Sensing Amplification by Self-Assembled Monolayers of 1,1A-Bis (Alkyl-N-Amido) Ferrocene. *Chemical Communications*, **16**, 1716-1717. <https://doi.org/10.1039/B205340N>
- [21] Liu, S.Q., Wollenberger, U., Katterle, M. and Scheller, F.W. (2006) Ferroceneboronic Acid-Based Amperometric Biosensor for Glycated Hemoglobin. *Sensors and Actuators B-Chemical*, **113**, 623-629. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.07.011>
- [22] Tanaka, T., Izawa, K., Okochi, M., Lim, T.K., Watanabe, S., Harada, M. and Matsunaga, T. (2009) On-Chip Type Cation-Exchange Chromatography with Ferrocene-Labeled Anti-Hemoglobin Antibody and Electrochemical Detector for Determination of Hemoglobin A1c Level. *Analytica Chimica Acta*, **638**, 186-190. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.02.016>
- [23] Han, G.C., Ferranco, A., Feng, X.Z., Chen, Z.C. and Kraatz, H.B. (2014) Synthesis, Characterization of Some Ferrocenoyl Cysteine and Histidine Conjugates, and Their Interactions with Some Metal Ions. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **31**, 5337-5347. <https://doi.org/10.1002/ejic.201402470>
- [24] Han, G.C., Feng, X.Z., Liang, J.T., Xiao, W.X. and Chen, Z.C. (2016) Interaction Study of Ferrocene Derivatives and Heme by UV-Vis Spectroscopy. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, **36**, 1585-1591.
- [25] Han, G.C., Feng, X.Z. and Chen, Z.C. (2015) Hemin/G-Quadruplex DNAzyme for Designing of Electrochemical Sensors. *International Journal of Electrochemical Science*, **10**, 3897-3913.
- [26] Zhang, J., Liu, Z., Han, G.C., Chen, S.L. and Chen, Z.C. (2016) Inhibition of Copper Corrosion by the Formation of Schiff Base Self-Assembled Monolayers. *Applied Surface Science*, **389**, 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.07.116>
- [27] Liu, Z., Li, W., Han, G.C., Yuan, S. and Chen, Z.C. (2014) Towards Label-Free Impedance Biosensors: CRP Probe Based on Thiol Schiff-Nickel Complex Modified Gold Nanoparticles. *Journal of the Electrochemical Society*, **161**, B75-B80. <https://doi.org/10.1149/2.022405jes>
- [28] Han, G.C., Hou, J.T., Feng, X.Z., Huang, Z.L., Gu, W. and Chen, Z.C. (2016) Electrochemical Determination of Protease with Improving Sensitivity by Electrochemical-Chemical-Chemical Redox Cycling. *International Journal of Electrochemical Science*, **11**, 8646-8653. <https://doi.org/10.20964/2016.10.16>
- [29] Zhao, X.Y., Liu, W., Zhou, B.B., Liu, S.S. and Han, G.C. (2015) Electrochemical MicroRNAs Biosensors Based on Enzymatic Signal Amplification. *International Journal of Electrochemical Science*, **10**, 8910-8925.
- [30] La, M., Hao, Y.Q., Wang, Z.Y., Han, G.C. and Qu, L.B. (2016) Selective and Sensitive Detection of Cyanide Based on

the Displacement Strategy Using a Water-Soluble Fluorescent Probe. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, **2016**, Article ID: 1462013. <https://doi.org/10.1155/2016/1462013>

- [31] Feng, X.Z., Han, G.C., Qin, J.H., Yin, S.M. and Chen, Z.C. (2016) Determination of Residual Solvents in Linezolid by Static Headspace GC. *Journal of Chromatographic Science*, **54**, 487-491. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmv175>
- [32] 赵翠伶, 王丽娟, 王连英, 等. 不同糖化血红蛋白检测方法在临床中的应用探讨[J]. 中国医刊, 2013, 48(8): 35-36.
- [33] 陈斌, 黄庆, 府伟灵. 离子交换层析微柱法及亲和电泳法与液相色谱分析法对糖化血红蛋白含量测定的比较[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(9): 1124-1125.
- [34] 吴宇芳, 关晓东. 琼脂糖凝胶电泳法测定糖化血红蛋白及其临床应用[J]. 西部医学, 2003, 1(2): 101-102.
- [35] 杜巧如, 何绍贵, 刘新民, 等. 亲和层析微柱法测定糖化血红蛋白及其临床应用[J]. 中国综合临床, 1994, 16(5): 39-41.
- [36] Guo, Y.J., Liu, Z., Han, G.-C., Li, W., Hu, Y.J. and Chen, Z.C. (2016) A New Fluorescent Switch for Determination of Pb²⁺ Based on Modified CdTe Quantum Dots. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **16**, 12172-12178. <https://doi.org/10.1166/jnn.2016.13754>
- [37] 李顺君, 黄文芳, 饶绍琴, 等. 糖化血红蛋白测定方法学评价[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(5): 381-383.
- [38] 周萍, 王长江. 糖化血红蛋白与血管内皮功能及糖尿病肾病的相关性[J]. 放射免疫学杂志, 2009, 34(12): 13-14.
- [39] 郑彤, 刘洪斌, 戴友良, 等. 胶乳凝集透射终点法测定糖化血红蛋白[J]. 上海医学检验杂志, 2001, 16(4): 231.
- [40] 胡应秀, 张红梅. 免疫透射比浊法测定 HbA_{1c} 的可靠性研究[J]. 吉林医学, 2011, 32(24): 4969-4970.
- [41] 李钟响. 糖化血红蛋白检测对糖尿病诊断、血糖控制及疗效评价的临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(1): 110.
- [42] 王丽娟, 纪立农. 国际专家委员会关于糖化血红蛋白检测在糖尿病诊断中的作用的报告[J]. 中国糖尿病杂志, 2009, 17(8): 563-568.
- [43] 姚震. 新的酶法检测糖化血红蛋白[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2003, 24(6): 387.

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: aac@hanspub.org