血钙浓度检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

规格：100T/96S

产品组成：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 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	自备试剂	-
标准液	液体 0.5 mL×1 支	2-8℃保存
96 孔板（Cat#YA0501）	96 孔×1 块	-
封板膜（Cat#YA0249）	2 张	-

溶液的配制：

1、 试剂三：自备试剂，大约需要 10mL。根据样本量，现用现配。将 4.5mL 无水甲醇和 0.5mL 丙酮混合（共 5mL，50T），常温保存 1 周；试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称。

2、 标准液：2μmol/mL $CaCl_2$ 溶液，临用前用蒸馏水进行 5 倍稀释得到 0.4 μmol/mL 标准溶液，即吸取 100μL 标准溶液和 400μL 蒸馏水混合。

产品说明：

血钙几乎全部存在于血浆中，所以血钙主要指血浆钙。血浆钙有离子钙和结合钙两种形式，其中只有离子钙直接起生理作用，它与结合钙处于动态平衡，并受血液pH的影响。血钙水平与多种重要的生理功能相关，过高或过低都会影响正常生理功能。本试剂盒用于检测血液中游离钙浓度。

在强碱溶液中游离钙与GBHA反应生成红色钙-GBHA复合物，在520nm有吸收峰；通过测定520nm吸光度，计算游离钙浓度。

$$\text{Blood Calclum + GBHA} \xrightarrow{\text{alkaline solution}} \text{Ca-GBHA (520nm)}$$

技术指标：

最低检出限：0.008 μmol/mL

线性范围：0.025- 1.5 μmol/mL

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、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96孔板、无水甲醇（>98%，AR）、丙酮（>98%，AR）和蒸馏水。

操作步骤：

一、测定步骤

1、 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到520nm，分光光度计蒸馏水调零。

2、 加样表（在EP管或96孔板中加入下列试剂）：

名称 （μL）	空白管	标准管	测定管
血浆	-	-	12
蒸馏水	12	-	-
标准液	-	12	-
试剂一	50	50	50
试剂二	50	50	50
试剂三	100	100	100

混匀后静置 5min 后于 520nm 测定吸光度 A，记为 A 测定管、A 空白管、A 测定管。（标准管和空白管只需做 1-2 次）

二、血钙浓度计算

血钙含量(μmol/dL)=[C标准液×(A测定管-A空白管)÷(A标准管-A空白管)]×100

=40×(A测定管-A空白管)÷(A标准管-A空白管)

C标准液：0.4μmol/mL；100：单位换算系数，1dL=100mL。

注意事项：

1、 宜早晨空腹采血，并且采血后应该尽快完成测定；

2、 尽量在 10min 内完成测定；

3、 因反应完成后需尽快测定，使用微量比色皿时，建议每批次测定 5-10 个样本；

4、 如果样本吸光值大于 0.8，建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定。

实验实例：

1、 取小鼠血浆按照测定步骤操作，测得计算A测定管=0.296，A空白管=0.092，A标准管=0.306，使用96孔板测得计算含量得：

血钙含量(μmol/dL)=40×(A测定管-A空白管)÷(A标准管-A空白管)=38.131 μmol/dL。