

钙试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号：BP10507W

有效期：6个月

规格：48T(40S)/96T(88S)

保存温度：2-8℃

实验原理：

样本中钙离子在碱性溶液中与甲基百里香酚蓝（MTB）结合，生成蓝色络合物；其颜色深浅与钙离子浓度成正比，该物质在 610nm 处有最大吸收峰，可计算出样本中钙的含量。

检测范围：0.02-1mmol/L 灵敏度：0.02mmol/L

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，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。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格(48T/40S)	规格(96T/88S)	保存条件
试剂一	4.5mL×1 瓶	9mL×1 瓶	2-8℃, 避光
试剂二	9mL×1 瓶	18mL×1 瓶	2-8℃
标准品	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、96 孔板、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.02-1mmol/L, 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, 样本稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **血清(浆)等液体样本**: 直接测定。若浑浊, 可离心后取上清测定。
4. **组织样本**: 按照组织质量(g): 体积(mL)为 1: 5 的比例加入匀浆介质(建议称取约 0.1g 组织, 加入 0.5mL 蒸馏水)进行机械匀浆, 10000 g, 4℃离心 10 min, 取上清液待测。如果需要检测蛋白浓度, 可留取部分上清进行蛋白浓度测定。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **反应工作液配制**：将试剂一和试剂二按体积比=1:2 配制，现配现用。
3. **标准工作液配置**：2.5mmol/L 标准品母液按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液：0mmol/L、0.1mmol/L、0.2mmol/L、0.3mmol/L、0.5mmol/L、0.7mmol/L、0.9mmol/L、1mmol/L。(注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用)。

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 (mmol/L)	0	0.1	0.2	0.3	0.5	0.7	0.9	1
2.5mmol/L 标准品(μL)	0	20	40	60	100	140	180	200
蒸馏水(μL)	500	480	460	440	400	360	320	300

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 610nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入) :

试剂名称(μL)	标准孔	测定孔
不同浓度标准品	10	
样本		10
工作液	250	250

混匀后室温静置 5 min, 在 610nm 处测定各孔 OD 值。

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：** $y=ax+b$
2. **血清（浆）、尿液钙含量计算公式：** 钙含量 $\text{mmol/L}=(\Delta A-b)\div a\times N$
3. **组织钙含量计算公式：** 钙含量 $(\text{mmol/gprot})=(\Delta A-b)\div a\div Cpr\times N$
4. **以质量计算：** 钙含量 $(\text{mmol/kg})=(\Delta A-b)\div a\div (W\div V)\times N$

注：

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值 ΔA : 样本测定 OD 值-空白 OD 值
(标准品浓度为 0 时 OD 值) (标准品浓度为 0 时 OD 值)

x: 标准品的浓度 N: 样本稀释倍数

a: 标曲的斜率 W: 组织质量, g

b: 标曲的截距 Cpr: 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

V: 提取液体积, mL

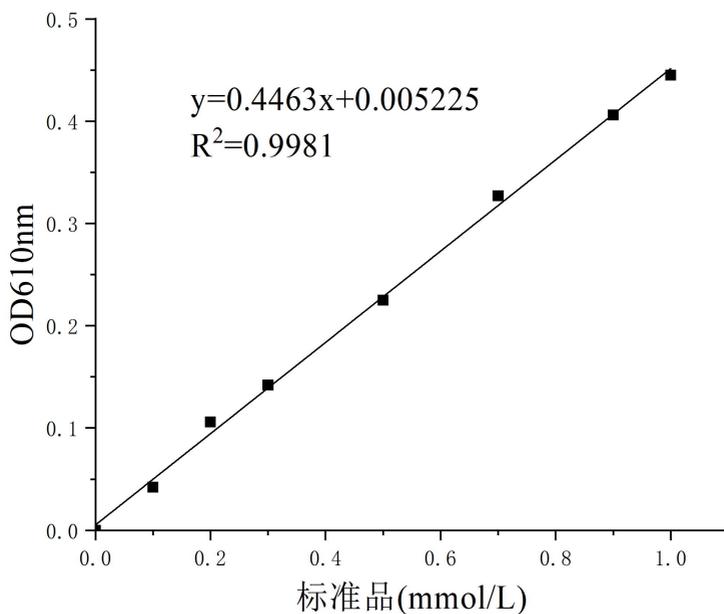
参考样本数据:

以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
人血清	不稀释	3.17mmol/L
人尿液	不稀释	6.34mmol/L
绿萝 (20%匀浆)	不稀释	0.3mmol/gprot
大鼠心脏 (20%匀浆)	不稀释	0.05mmol/gprot

参考曲线:

$y=0.4463x+0.005225, R^2=0.9981$, x 是标准品的浓度 (mmol/L), y 是 ΔA 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。