**钙检测试剂盒(邻甲酚酞络合酮比色法)说明书**

**产品简介：**

 钙(Calcium)是一种金属元素，常温下呈银白色晶体，动物的骨骼、蛤壳、蛋壳都含有碳酸钙。检测生命体钙含量，主要通过检测钙离子浓度实现的，用分光度法检测钙较为常见，该法需要合适的金属指示剂或选择性结合钙离子后引起变色的染料化合物，目前较为常用的染料有邻-甲酚酞络合酮(OCPC)、偶氮砷Ⅲ、甲基麝香草酚蓝(MTB)等。

 钙检测试剂盒(邻甲酚酞络合酮比色法)是利用溶液中钙离子在碱性条件下能与OCPC结合，生成紫红色的络合物，加入镁离子螯合剂，去除镁离子背景干扰，通过分光光度计检测575nm处吸光度，根据公式计算出总钙含量。该法的优点：1、是国际上推荐的血清钙的常规检测方法；2、试剂单一，操作简便；3、灵敏度高；4、显色稳定5、使用样本量小。该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

**产品组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  编号名称 | RC2206250T | Storage |
| 试剂(A): 钙标准(2.5mmol/L) | 1ml  | 4℃  |
| 试剂(B): Ca Assay Buffer | 50ml | RT 避光 |
| 试剂(C): OCPC显色液 | 50ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(D): ddH2O | 10ml | RT  |
| 使用说明书 | 1份 |

**自备材料：**

1. 离心管或试管
2. 比色杯
3. 分光光度计

**操作步骤**(仅供参考)**：**

1. 制备样品：

①血浆、血清样品：血浆、血清按照常规方法制备，可以直接用于本试剂盒的测定，-20℃冻存，用于Ca的检测。

②细胞或组织样品：取恰当细胞或组织进行匀浆，低速离心取上清，-20℃冻存，用于Ca的检测。

③高浓度样品：如果样品中含有较高浓度的Ca，可以使用ddH2O稀释，不宜使用普通蒸馏水稀释。

④(选做)样品准备完毕后可以用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计 算单位蛋白重量组织或细胞内的Ca含量。

1. 配制Ca显色工作液：临用前，取Ca Assay Buffer和OCPC显色液等量混合，即为Ca显色工作液，即配即用，4℃ 避光保存，不宜久置。
2. Ca加样：选用经稀盐酸处理及去离子水清洁的干燥试管或者一次性无菌聚乙烯离心管，按照下表设置空白管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的钙离子含量过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 加入物(ml) | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
| ddH2O | 0.025 | - | - |
| 钙标准(2.5mmol/L) | - | 0.025 | - |
| 待测样品 | - | - | 0.025 |
| Ca显色工作液 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |

1. Ca测定：混匀，室温静置10min，以空白管调零，比色杯光径1cm，分光光度计575nm处检测，读取标准管、测定管的吸光度(即为*A*标准，*A*测定)。

**计算：**

血清、血浆中钙(mmol/L)=(*A*测定/*A*标准)×2.5

组织中钙(mmol/mg)=(*A*测定/*A*标准)×2.5/待测样品蛋白浓度(mg/L)

式中：*A*测定=测定管的吸光度

*A*标准=标准管的吸光度

**参考区间：**健康成年人血清钙浓度：2.1~2.6mmol/L

 儿童血清钙浓度：2.25~2.67mmol/L

**注意事项：**

1. 溶血样本对检测有干扰，尽量避免采用溶血样本。
2. OCPC显色液偶尔会结晶析出，配制成的显色工作液有时会析出，可取上清液使用。
3. 该试剂盒对钙离子敏感度较高，测定器皿一定要干净，最好使用一次性聚乙烯塑料器皿。
4. 可用血清或肝素抗凝血浆样本，不宜采用钙螯合剂及草酸盐做抗凝剂的样本。
5. 胆红素可产生负干扰，含有较高胆红素的样本可用血清对照消除该干扰。
6. 本法能够用于自动生化分析仪终点检测法。
7. 在本试剂盒条件下，建议待测样品中钙离子浓度应大于0.5mmol/L为宜，否则有可能造成检测误差。
8. 如果样品浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。

**有效期：** 6个月有效。常温运输，4℃保存。