

钙含量(邻甲酚酞络合铜比色法)检测试剂盒说明书

(微板法96样)

一、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。

本试剂盒利用溶液中钙离子在碱性条件下能与邻甲酚酞络合铜(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。通过检测生成有色络合物于575nm处的吸光值,即可计算出总钙含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体11mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体11mL×1瓶	4℃保存	
标准品	液体1mL×1支	4℃保存	2.5mmol/L的钙标准品。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水(无钙离子)。

四、钙含量检测:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①液体样品:澄清的液体样本如血清可直接检测。

②组织样本:取约0.1g组织样本,加1mL生理盐水研磨,粗提液全部转移到EP管中,12000rpm,常温离心10min,上清液待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

③细菌/细胞样本:先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约500万细菌或细胞加入1mL生理盐水,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率200W,超声3s,间隔10s,重复30次);12000rpm离心10min,取上清待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

2、上机检测:

①酶标仪预热30min,设定波长到575nm。

②所有试剂解冻至室温,按照试剂一:试剂二为1:1配制反应mix(4℃避光保存三天)。

③在96孔板中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	标准管 (仅测一次)	空白管 (仅测一次)
样本	5		
标准品		5	
蒸馏水			5

反应mix	200	200	200
混匀，室温放置2min, 于波长575nm处读取各管吸光度A。			

【注】：1. 测定管的A 值若超过2, 可把样本用蒸馏水稀释后测定，稀释倍数D 代入计算公式。

2. 若A 测定值接近A 空白值，则可以增加样本加样体积V1 （如增至25 μL，则 反应mix 减为180 μL；标准管仍为5 μL，蒸馏水20 μL，反 应mix 为180 μL；空白管为蒸馏水25 μL，反 应mix 为180 μL）， 则改变后的V1 需带入公式计算。

五、结果计算：

1. 按液体体积计算：

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 2.5 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

2. 按样本质量计算：

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\mu\text{mol/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 2.5 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D}\end{aligned}$$

3. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times 10^3 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 5 \times (\Delta\text{A 测定} - \Delta\text{A 空白}) \div (\Delta\text{A 标准} - \Delta\text{A 空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

4. 按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\mu\text{mol/mg prot}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{V1} \times \text{Cpr}) \times \text{D} \\ &= 2.5 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{Cpr} \times \text{D}\end{aligned}$$

C 标准---钙标品浓度，2.5mmol/L=2.5μmol/mL；

V 标---标准品加入体积，0.005mL；

D--- 稀释倍数，未稀释即为1；

V1--- 加入样本体积，0.005mL；

V--- 提取液体积，1mL；

W--- 取样质量，g；

500---细胞数量，万。

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL； 建议使用本公司BCA 蛋白质含量测定试剂盒。