

钙含量（邻甲酚酞络合铜比色法）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-D010 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 11mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 11mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃避光保存	2.5mmol/L 的钙标准品。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、天平、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

① 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。

② 液体样品：澄清的液体样本如血清可直接检测。

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（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min（等待仪器过自检程序亦可），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 孔板中按下表依次加入：

试剂组分 (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 25μL，则反应 mix 减为 180μL；标准管仍为 5μL，蒸馏水 20μL，反应 mix 为 180μL；空白管为蒸馏水 25μL，反应 mix 为 180μL），则改变后的 V1 需带入公式计算。

五、结果计算：

1.按样本质量计算：

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

2.按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V1 \times C_{\text{pr}}) \times D \\ &= 2.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div C_{\text{pr}} \times D\end{aligned}$$

3.按液体体积计算：

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

4.按细胞数量计算：

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

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。