

钙离子检测试剂盒（比色法）

Calcium Assay Kit (Colorimetric)

产品编号	产品名称	规格
E2083	Calcium Assay Kit	100T

产品简介

钙离子检测试剂盒（Calcium Assay Kit）是一种灵敏简便的检测钙离子浓度的试剂盒。生物体液和组织中含有钙离子。钙离子在骨骼形成、电生理、细胞活化和酶活力等方面，发挥复杂的生理调节功能。

钙离子能够和σ-Cresolphthalein Complexone 结合形成紫色复合物，在 575nm 波长具有最大吸光度，本试剂盒利用钙离子和σ-Cresolphthalein Complexone 的结合反应进行定量测定生物体液、细胞和组织中钙离子浓度。

本试剂盒以氯化钙为标准品，检测线性范围为 0.039-2.5 mM，灵敏度≤0.039 mM。

本试剂盒能够检测生物体液、细胞裂解液和组织匀浆液中的钙离子浓度。

试剂盒组成

组份编号	组份名称	规格	数量
E2083-1	Calcium Assay Buffer	50 ml/瓶	1
E2083-2	Calcium Detector R1	5 ml/瓶	1
E2083-3	Calcium Detector R2	5 ml/瓶	1
E2083-4	Calcium Standard (100 mM)	0.5 ml/管	1
—	说明书	份	1

需要而未提供的试剂及器材

1. 去离子水
2. 系列可调节量程移液器及吸头
3. 干净的试管、离心管及 96 孔板
4. 酶标仪

储存条件

4 °C 储存，保质期 12 个月。

注意事项

1. 每次测定时利用标准品制作标准曲线。
2. 本产品仅限专业人员用于科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
3. 本试剂盒中部分试剂具有较强的碱性，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

测定前准备

1. 样品的准备

- 1.1 血浆样品的准备: 取新鲜肝素抗凝血, 4°C、1000g 离心 10 分钟, 上清为血浆, 取血浆-80°C冻存。
- 1.2 血清样品的准备: 取新鲜血液, 25°C凝固 30 分钟, 4°C、2000g 离心 15 分钟, 上清为血清, 取血清-80°C冻存。
- 1.3 细胞裂解上清的准备: 收集待测细胞 ($\sim 5 \times 10^6$), 加入 0.5ml 钙离子测定缓冲液并转移到匀浆管中进行冰浴匀浆, 然后 4°C、10000g 离心 15 分钟, 取细胞裂解上清-80°C冻存。
- 1.4 组织裂解上清的准备: 取待测组织 20-50mg, 用去离子水冲洗红细胞和血凝块, 然后将组织放置到匀浆管中, 加入 0.5ml 钙离子测定缓冲液进行冰浴匀浆, 4°C、10000g 离心 15 分钟, 取组织裂解上清-80°C冻存。
- 1.5 尿液的准备: 收集尿液到合适容器中, -80°C冻存。

正式测试时样品稀释倍数根据预实验确定。稀释液为钙离子测定缓冲液。

2. 标准品的准备

在 1.5 ml 离心管中, 加入 390 μ l 钙离子测定缓冲液, 再取 10 μ l 的 100 mM 浓度氯化钙标准品加入离心管中配制 2.5 mM 浓度氯化钙标准品; 然后取另外 6 根 1.5 ml 离心管, 分别加入 200 μ l 钙离子测定缓冲液, 再吸取 200 μ l 的 2.5 mM 浓度氯化钙标准品依次倍倍稀释为 1.25、0.625、0.312、0.156、0.078、0.039mM 浓度。

3. 试剂盒的准备

钙离子检测工作液的配制: 根据待测样品数将等体积 Calcium Detector R1 和 Calcium Detector R2 混合配制适量的钙离子检测工作液。

注: 混合后钙离子检测工作液呈淡紫色, 是正常现象。

测定方法

1. 参考下表, 使用透明 96 孔板, 依次加入钙离子检测工作液、标准品或样品, 轻轻振荡混匀, 室温孵育 5 分钟。

	空白对照孔	标准曲线孔	样品孔
钙离子检测工作液	100 μ l	100 μ l	100 μ l
Calcium Assay Buffer	10 μ l	—	—
标准品	—	10 μ l	—
样品	—	—	10 μ l

2. 待反应完成后, 利用酶标仪测定 A575nm。

数据处理

利用标准品浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标制作标准曲线, 并获得横纵坐标之间的函数关系式, 然后利用标准曲线和各样品的吸光度值计算样品中钙离子浓度。

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)、尿液钙含量计算公式:

$$\text{钙含量 (mmol/L)} = (\Delta A_{575} - b) \div a \times f$$

细胞、组织钙含量计算公式:

$$\text{钙含量 (mmol/gprot)} = (\Delta A_{575} - b) \div a \div \text{Cpr} \times f$$

注解:

ΔA_{575} : 样本测定 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

Cpr: 待测样本的蛋白浓度(gprot/L)

参考文献

1. H. Ota, T. Sugita, Y. Matsuki, Y. Nakamura, T. Ishii, 1968. Evaluation of colorimetric determination of calcium with σ -cresolphthalein complexone. Rinsho Byori. 16(8): 659-662.
2. C.M. Corns, C.J. Ludman, 1987. Some observations on the nature of the calcium-cresolphthalein complexone reaction and its relevance to the clinical laboratory. Ann. Clin. Biochem. 24(Pt 4): 345-351.