

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K103-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(600-620 nm)

Elabscience® 钙 (Ca) 比色法测试盒

Calcium (Ca) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、尿液、组织等样本中钙含量。

检测原理

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 610 nm 处有最大吸收峰，通过比色与同样处理的钙标准进行比较，可计算出样本中钙的含量。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	MTB 试剂 (MTB Reagent)	5 mL×1 瓶	10 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	碱性溶液 (Alkali Reagent)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	蛋白澄清剂 (Clarificant)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	2.5 mmol/L 标准品 (2.5 mmol/L Calcium Standard)	5 mL×1 瓶	10 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

所需自备物品

仪器:酶标仪(600-620 nm, 最佳波长 610 nm)、涡旋混匀仪、微量移液器(1000 μL , 200 μL , 50 μL , 10 μL)。

耗材:枪头(1 mL, 200 μL , 10 μL)、EP管(5 mL, 2 mL)。

试剂:去离子水。

试剂准备

① 实验开始前将所有试剂平衡至室温。

② 试剂三在2-8 $^{\circ}\text{C}$ 为固体, 使用前需放入37 $^{\circ}\text{C}$ 解冻至澄清。

③ 工作液的配制:

工作液I(用于测定血清(浆)样): 按试剂一: 试剂二为1:2体积比例混匀, 现用现配, 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存24 h。

工作液II(用于测定组织样本): 按试剂一: 试剂二: 试剂三为10:20:1体积比例混匀, 现用现配, 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存24 h。

④ 不同浓度标准品的稀释

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2
2.5 mmol/L 标准品(μL)	0	40	60	80	120	160	200	240
去离子水(μL)	500	460	440	420	380	340	300	260

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(去离子水)。匀浆后,4℃,10000 × g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前,需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验,根据预实验的结果,结合本试剂盒的线性范围:0.07-1.2 mmol/L,请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
狗血清	2-3	20%动物组织匀浆	不稀释
人血清	3-6	人尿液	4-8
小鼠血清	3-6		

注:稀释液为去离子水。

实验关键点

测定过程,检测过程中涉及到的装试剂的容器及试管要干净,防止钙污染。

操作步骤

血清（浆）、尿液等样本

- ① 标准孔：取 10 μL 不同浓度的标准品加入到酶标板孔中。
测定孔：取 10 μL 待测样本加入到酶标板孔中。
- ② 向①步骤中标准孔、测定孔加入 250 μL 工作液I，酶标仪振板 30 s，静置 5 min。
- ③ 酶标仪 610 nm，测定 OD 值。

组织样本

- ① 标准孔：取 10 μL 不同浓度的标准品加入到酶标板孔中。
测定孔：取 10 μL 待测样本加入到酶标板孔中。
- ② 向①步骤中标准孔、测定孔加入 250 μL 工作液II，酶标仪振板 30 s，静置 5 min。
- ③ 酶标仪 610 nm，测定 OD 值。

操作表

血清（浆）、尿液等样本

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品 (μL)	10	--
待测样本 (μL)	--	10
工作液 I (μL)	250	250

酶标仪振板 30 s，静置 5 min 后，酶标仪 610 nm 处，测定 OD 值。

组织样本

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品 (μL)	10	--
待测样本 (μL)	--	10
工作液 II (μL)	250	250

酶标仪振板 30 s，静置 5 min 后，酶标仪 610 nm 处，测定 OD 值。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清（浆）、尿液钙含量计算公式：

$$\begin{aligned} \text{钙含量} \\ (\text{mmol/L}) \end{aligned} = (\Delta A_{610} - b) \div a \times f$$

组织钙含量计算公式：

$$\begin{aligned} \text{钙含量} \\ (\text{mmol/gprot}) \end{aligned} = (\Delta A_{610} - b) \div a \div C_{pr} \times f$$

注解：

ΔA_{610} ：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

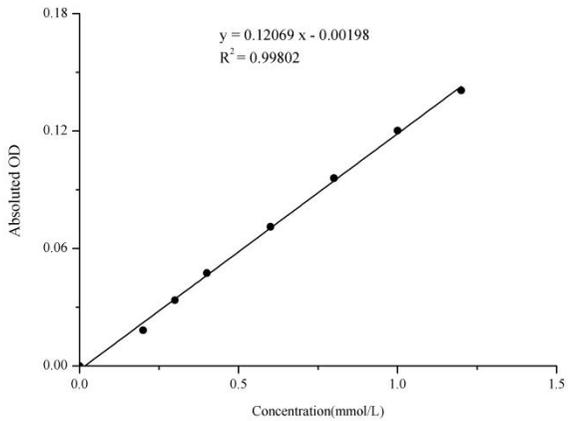
C_{pr} ：待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.07-1.2 mmol/L	平均批间差	8.5%
灵敏度	0.07 mmol/L	平均批内差	4.7%
平均回收率	99%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

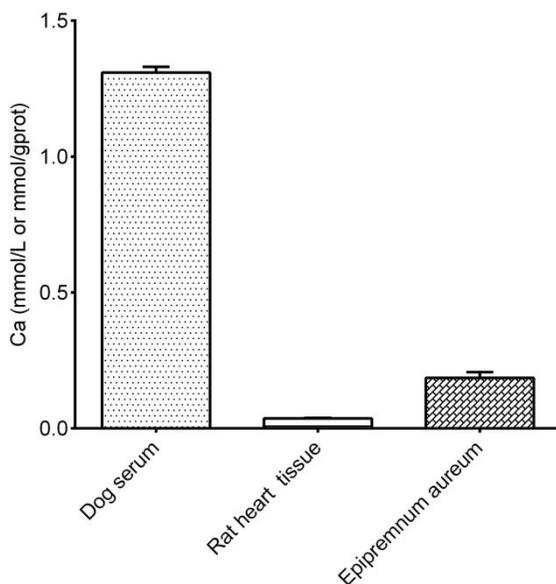
例如检测狗血清(数据仅供参考):

狗血清用去离子水稀释2倍, 取10 μL 稀释后的样本, 按操作表操作, 结果如下:

标准曲线: $y=0.1298x+0.0018$, 测定孔平均OD值为0.308, 空白孔平均OD值为0.221, 计算结果为:

$$\text{钙含量 (mmol/L)} = (0.308 - 0.221 - 0.0018) \div 0.1298 \times 2 = 1.31 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作, 测定狗血清(稀释2倍, 加样量为10 μL)、大鼠心脏组织(20%组织匀浆的蛋白含量9.30 gprot/L, 加样量为10 μL)、绿萝(20%组织匀浆的蛋白含量4.34 gprot/L, 加样量为10 μL)中钙含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测不出值	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
样本测量结果 >1.2 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Mao J , Sun Z , Wang S ,et al.Multifunctional Bionic Periosteum with Ion Sustained - Release for Bone Regeneration[J].Adv. Sci. 11.DOI:10.1002/advs.202403976.
2. Lin B , Li F , Hui J ,et al.Modular Reconfigurable Approach Toward Noninvasive Wearable Body Net for Monitoring Sweat and Physiological Signals[J].
3. Kang J Y , Gu J Y , Baek D C ,et al.A Capsicum annum L. seed extract exerts anti-neuroexcitotoxicity in HT22 hippocampal neurons[J].Food & Function, 2024, 15(4):10.DOI:10.1039/D3FO04501C.

