

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

**产品货号：GBQ104**

**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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://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：GBQ162）。

## 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  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{L}$ )。

**耗材:**枪头(1 mL, 200  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{L}$ )、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( $\mu\text{L}$ )	0	40	60	80	120	160	200	240
去离子水( $\mu\text{L}$ )	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  $\mu\text{L}$  不同浓度的标准品加入到酶标板孔中。  
测定孔：取 10  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  不同浓度的标准品加入到酶标板孔中。  
测定孔：取 10  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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 ( $\mu\text{L}$ )	10	--
待测样本 ( $\mu\text{L}$ )	--	10
工作液 I ( $\mu\text{L}$ )	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 ( $\mu\text{L}$ )	10	--
待测样本 ( $\mu\text{L}$ )	--	10
工作液 II ( $\mu\text{L}$ )	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：GBQ162）。

## 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：**

$\Delta A_{610}$ ：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

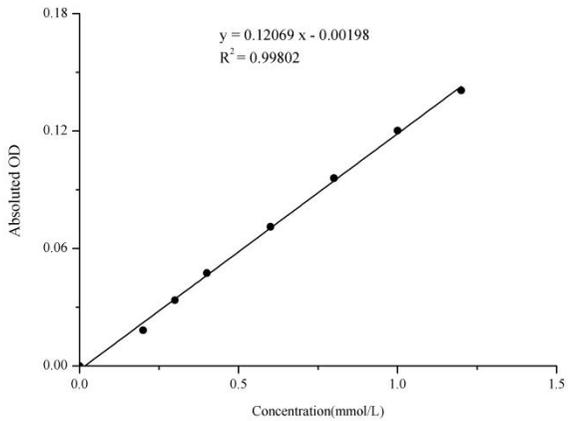
$C_{pr}$ ：待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

## 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

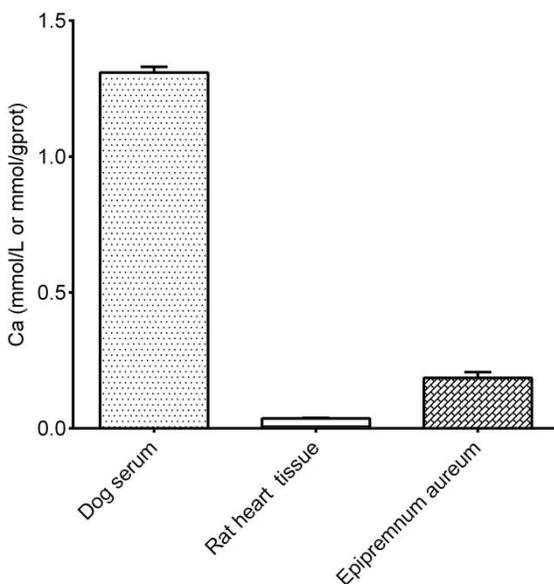
例如检测狗血清(数据仅供参考):

狗血清用去离子水稀释2倍, 取10  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ )、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  $\mu\text{L}$ )、绿萝(20%组织匀浆的蛋白含量4.34 gprot/L, 加样量为10  $\mu\text{L}$ )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. Zeng B, Huang Y, Chen S, et al. Dextran sodium sulfate potentiates NLRP3 inflammasome activation by modulating the KCa3.1 potassium channel in a mouse model of colitis[J]. Cellular & Molecular Immunology. IF:22.096
2. Ruan F,Zeng J,Yin H, et al. RNA m6A Modification Alteration by Black Phosphorus Quantum Dots Regulates Cell Ferroptosis: Implications for Nanotoxicological Assessment[J]. Small Methods, 2021, 5(3): e2001045 IF:12.13
3. Tian H, Zhou L, Wang Y, et al. A targeted nanomodulator capable of manipulating tumor microenvironment against metastasis. J Control Release. 2022; 348:590-600. IF:11.467
4. Pan C, Yan M H, Jin H B, et al. Chronic exposure to MC-LR increases the risks of microcytic anemia: Evidence from human and mice[J]. Environmental Pollution, 2021, 288, 117966. IF:8.07
5. Gao W,Huang Z,Duan J, et al. Elesclomol induces copper-dependent ferroptosis in colorectal cancer cells via degradation of ATP7A[J]. Molecular Oncology. IF:6.603
6. Sun Z, Yue Z, Liu H, et al. Microbial-Assisted Wheat Iron Biofortification Using Endophytic Bacillus altitudinis WR10[J]. Frontiers in Nutrition, 2021:476-. IF:6.576
7. Yy A, Sw A, Kc A, et al. Upregulation of autophagy in M2 macrophage by vitamin D alleviates crystalline silica-induced pulmonary inflammatory damage[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 225. IF:5.248
8. Carafa V, Russo R, Della Torre L, et al. The Pan-Sirtuin Inhibitor MC2494 Regulates Mitochondrial Function in a Leukemia Cell Line[J]. Frontiers in Oncology, 2020, 10: 820. IF:4.848
9. Su B, Li A, Deng M R, et al. Transcriptome Analysis Reveals a Promotion of Carotenoid Production by Copper Ions in Recombinant Saccharomyces cerevisiae[J]. Microorganisms, 2021, 9(2):233. IF:4.128
10. Rana M. Adel, Rania A. Lotfy, Atef S. Darwish, et al. Destructive effect of iron overload in brain tissue of albino rats: Ameliorative role of silver immobilized organo-modified casein nanocomposite as co-treating agent with Deferasirox[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2021 Sep;67:126794. IF:3.849
11. Gao Q, Li X, Su S, et al. Deletion of the c2515 and c2516 genes affects iron uptake and virulence of APEC O1 strain E516[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2021, 8. IF:3.412
12. ul Haq M E, Akash M S H, Rehman K, et al. Chronic exposure of bisphenol A impairs

- carbohydrate and lipid metabolism by altering corresponding enzymatic and metabolic pathways[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020: 103387. IF:3.292
13. Surendran V, Chiulli T, Manoharan S, et al. Acoustofluidic Micromixing Enabled Hybrid Integrated Colorimetric Sensing, for Rapid Point-of-Care Measurement of Salivary Potassium[J]. *Biosensors*, 2019, 9(2): 73. IF:3.24
  14. Elblehi SS, El-Sayed YS, Soliman MM, Shukry M. Date Palm Pollen Extract Avert Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy Fibrosis and Associated Oxidative/Nitrosative Stress, Inflammatory Cascade, and Apoptosis-Targeting Bax/Bcl-2 and Caspase-3 Signaling Pathways[J]. *Animals (Basel)*. 2021 Mar 20;11(3):886. doi: 10.3390/ani11030886. IF:2.752
  15. Mohammed M E, Abbas A M, Badi R M, et al. Effect of Acacia senegal on TGF- $\beta$ 1 and vascular mediators in a rat model of diabetic nephropathy[J]. *Archives of physiology and biochemistry*, 2020: 1-11. IF:2.575
  16. Soo T, See S, Bhassu S. Potential muscle activity disturbance in *Penaeus monodon* during Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) infection: Inference through gene expression, calcium concentration, and MicroRNA - ScienceDirect[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2020, 177. IF:2.074