

Calcium Colorimetric Assay Kit

钙含量显色检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1561A	钙含量显色检测试剂盒	200T

产品简介:

钙(calcium)通常是哺乳动物机体内最为丰富的矿物质,参与调控众多的细胞生命活动过程,也是最为重要的细胞内调控因子之一。钙能够以自由离子或结合钙离子的复合物两种形式存在,例如磷酸钙和碳酸钙复合物即为骨骼组织的组成成分。包括肌肉收缩、细胞粘附、激素/神经递质释放、糖原代谢、细胞增殖/分化、血凝、神经或突触传递以及骨骼结构支持在内的大量生理过程都受到钙信号的调控。细胞特异性钙信号系统完整性的缺陷会导致一些疾病的发生。

本产品是一种通过比色法快速定量检测细胞、组织、血清、血浆、尿液、培养液等样品中钙离子含量的检测试剂盒。检测原理是:在碱性条件下,钙离子与邻甲酚酞络合酮反应产生紫色复合物,通过检测 575nm 处的吸光度即可定量检测钙离子含量。

产品组成:

编号	试剂名称	规格
BL1561A-1	样品裂解液	50mL
BL1561A-2	检测缓冲液	15mL
BL1561A-3	显色液	15mL
BL1561A-4	钙标准品(500mM)	0.2mL

保存条件:

-20℃避光保存,一年有效。

注意事项:

1. 样品的 pH 值应在 6-8 之间。pH 值过高或者过低都会影响结果的准确性。
2. 在样品加样和混匀过程中,请务必轻柔操作,避免产生气泡,否则可能影响最终检测结果。
3. 如果不能非常严格地控制反应温度和反应时间,每次检测都需要设置标准曲线。
4. 检测缓冲液及显色液使用前需平衡至室温。检测缓冲液与显色液混合配制而成的工作液需用现配,建议在 30 分钟内使用。
5. 螯合剂(如 EDTA、EGTA 等)、柠檬酸盐、草酸盐、氟化钠等氟化物等可以和钙离子结合的物质会干扰本试剂盒的检测。
6. 检测缓冲液和显色液对人体有害,请操作小心,并注意防护以避免直接接触人体或吸入体内。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品。
8. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方法:

一、样品准备:

尽量使用新鲜样品,如果不能及时检测,请根据如下方法处理样品并妥善保存。样品冻存可能会影响样品的稳定性并导致检测数值低于预期结果。初次检测时,建议先尝试设置几个不同稀释度的样品,以保证有适当稀释度的样品检测数值在线性范围内。

1. 组织样品:
 - (a) 把组织剪切成细小的碎片。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



- (b) 融解样品裂解液，混匀。
- (c) 按照每 20 毫克组织加入 100-200 μ L 的比例加入样品裂解液(如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的样品，可以适当减少裂解液的用量)，用适当的研磨仪或玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。
- (d) 充分裂解后，4 $^{\circ}$ C 10,000-14,000g 离心 3-5 分钟，取上清，冰上放置待测。
- (e) 如果当天不进行检测，将样品置于-80 $^{\circ}$ C 冷冻保存。后续检测时取出后在冰上融化。处理好的组织样品请在一个月内使用，避免反复冻融。

2. 细胞样品：

- (a) 融解样品裂解液，混匀。
- (b) 对于贴壁细胞：去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。按照 6 孔板每孔加入 100-200 μ L 的比例加入样品裂解液。用枪吹打数下，使样品裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后，细胞就会被裂解。
- (c) 对于悬浮细胞：4 $^{\circ}$ C 600g 离心 5 分钟收集细胞，弃上清，用力把细胞弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 100-200 μ L 裂解液的比例加入样品裂解液。再用手轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。注：大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。
- (d) 充分裂解后，4 $^{\circ}$ C 10,000-14,000g 离心 3-5 分钟，取上清，冰上放置待测。
- (e) 样品裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 100 μ L 样品裂解液，但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量至 150 μ L 或 200 μ L。
- (f) 如果当天不进行检测，将样品置于-80 $^{\circ}$ C 冷冻保存，检测时取出于冰上融化。处理好的细胞样品请在一个月内使用，并避免反复冻融。

3. 血清、血浆等液体样品：

生物液体样品及其它液体样品可直接检测。

- 【注】：**
1. 制备血清时建议使用肝素，避免使用 EDTA 类螯合剂，因为螯合剂会和钙离子结合而影响检测结果。
 2. 建议适当稀释样品以获得最佳检测结果及保证检测数值在线性范围内。此处的样品稀释倍数记录为 n。
 3. 如果当天不进行检测，推荐将样品置于-80 $^{\circ}$ C 冷冻保存，检测时取出于冰上融化。处理好的样品请在一个月内使用，并避免反复冻融。

二、标准品及样品测定：

1. 检测缓冲液及显色液使用前应平衡至室温。
2. 钙标准溶液的制备：取 10 μ L 500mM 的钙标准品，加入 990 μ L 去离子水，充分混匀后即可得到 5mM 的钙标准溶液。参考下表稀释钙标准品，制备 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mM 浓度标准品。

标准品编号	5mM 钙标准溶液(μ L)	去离子水(μ L)	钙离子浓度(mM)
1	0	150	0
2	3	147	0.1
3	6	144	0.2
4	12	138	0.4
5	18	132	0.6
6	24	126	0.8
7	30	120	1.0

- 【注】：**
1. 保证每个稀释度足够两个重复孔的使用量，如果重复孔更多，相应体积成比例增加即可。
 2. 根据钙的原子量为 40，可以从摩尔浓度和体积计算出每孔的钙离子量。
 3. 检测工作液的配制：计算一次实验所需用量，把检测缓冲液与显色液以 1:1 混合配制成检测工作液待用。

【注】：检测工作液需现用现配，时间太长可能会失效，建议配制好的检测工作液在 30 分钟内使用。

4. 检测：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



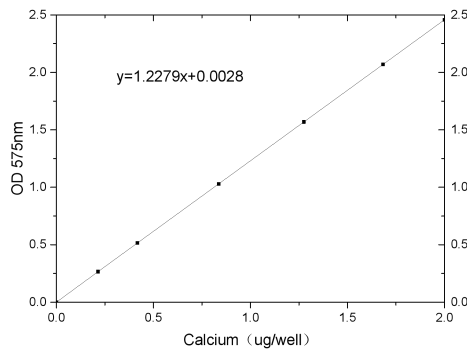
- (a) 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 575nm。
(b) 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称(μL)	标准管	样品管
标准品	50	-
样本	-	50
检测工作液	150	150
混匀，室温避光孵育 5-10min，于 575nm 处读取吸光值。		

- 【注】：1. 须在 30 分钟内完成吸光度检测，时间过长所产生的颜色会逐渐变淡，从而影响检测效果。
2. 若样品体积不足 50μL，可在 2-50μL 任意体积，并用去离子水补平到 50μL。
3. 若样品中钙离子浓度较高，可以制备 0、1、2、4、6、8、10mM 浓度标准品，并且标准品和样品的用量全部都是 5μL，样品可以使用 1-5μL 的任意体积，然后用去离子水补平到 5μL。
4. 根据钙的原子量为 40，可以从摩尔浓度和体积计算出每孔的钙离子量。

三、结果计算：

1. 计算标准品组中每个浓度组的平均吸光度，减去空白对照组的吸光度，即为各个浓度标准品的吸光度。
2. 以钙标准品的钙离子量为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制出标准曲线。钙离子的标准曲线可以参考下图。



3. 计算公式： $C = A \times n / V$ (μg/μL) 或 $C = (A \times n / V) / 40$ (mol/L)
A 为根据标准曲线确定的钙离子量(μg)
n 为样品稀释倍数
V 为加入的样品体积
40 为钙的原子量

