天净沙系列

CAT#:7-C14127-61-8

低温运输，2-8℃避光保存

天净沙

钙离子含量测定试剂盒

Calcium Ion Assay Kit

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品用于测定钙离子（Calcium Ion，CAS 14127-61-8）含量。其原理是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 575 nm 处的吸光值，即可计算出总钙含量。本产品具有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 提供钙离子阳性对照，便于在遇到问题时分析原因。
3. 适用于检测从各种样本中提取的，或合成的钙离子。
4. 足够 100 次 200 μL 体系的 96 孔板检测。
5. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
钙离子测定液 1	7-C14127-61-8a	11 mL	15 mL 棕色瓶
钙离子测定液 2	7-C14127-61-8b	11 mL	15 mL 棕色瓶
钙离子标准品 (2.5 mmol/L)	7-C14127-61-8sd	1 mL	1.5 mL 棕色瓶
使用手册	7-C14127-61-8sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，2-8℃避光保存，有效期 3 个月。

自备试剂

待测样品，样本溶解液，超纯水，96 孔板及与之匹配的分光光度计。

使用方法

一、样本提取：首次使用本试剂盒建议先选取 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. 组织样本：取约 0.1 g 组织样本，加 1 mL 生理盐水研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000 ×g，常温离心 10 min，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 1 mL 生理盐水，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；12000 ×g 离心 10 min，取上清待测。

   【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

4. 本实验亦可用裂解液裂解细胞样本进行后续实验检测，裂解方式以裂解液操作说

明为准。

二、检测步骤:

5. 酶标仪预热 30 min（等待仪器过自检程序亦可），设定波长到 575 nm。
6. 所有试剂解冻至室温，按照钙离子测定液 1：钙离子测定液 2 为 1:1 配制反应 mix（4℃避光保存三天内用完）。
7. 在 96 孔板中按下表依次加入：

组份	空白管（仅一次）	标准管（仅一次）	测定管
样本			5 μL
标准品		5 μL	
蒸馏水	5 μL		
反应 mix	200 μL	200 μL	200 μL

8. 混匀，室温放置 2 min，于波长 575 nm 处读取各管吸光度 A。
9. 注：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。
10. 注：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 25 μL，则反应 mix 减为 180 μL；标准管仍为 5 μL，蒸馏水 20 μL，反应 mix 为 180 μL；空白管为蒸馏水 25 μL，反应 mix 为 180 μL），则改变后的 V1 需带入公式计算。

三、数据处理

11. 按样本质量计算：钙含量（μmol/g）=（C 标准 × V 标）×（A 测定 - A 空白）÷（A 标准- A 空白）÷（W × V1 ÷ V）× D = 2.5 ×（A 测定- A 空白）÷（A 标准- A 空白）÷ W × D
12. 按蛋白浓度计算：钙含量（μmol/ mg prot）=（C 标准 × V 标）×（A 测定 - A 空白）÷（A 标准- A 空白）÷（V1 × Cpr）× D = 2.5 ×（A 测定- A 空白）÷（A 标准- A 空白）÷ Cpr × D
13. 按液体体积计算：钙含量（mmol/L）=（C 标准 × V 标）×（A 测定 - A 空白）÷（A 标准- A 空白）÷ V1 × D = 2.5 ×（A 测定- A 空白）÷（A 标准- A 空白）× D
14. 按细胞数量计算：钙含量（nmol/10^4 cell）=（C 标准 × V 标）× 10^3 ×（A 测定 - A 空白）÷（A 标准- A 空白）÷（500 × V1 ÷ V）× D = 5 ×（A 测定- A 空白）÷（A 标准- A 空白）× D

	15. **C 标准**：钙标品浓度，2.5 mmol/L=2.5 μmol/mL；**V 标**：标准品加入体积，0.005 mL；**D**：稀释倍数，未稀释即为 1；**V1**：加入样本体积，0.005 mL；**V**：提取液体积，1 mL；**W**：取样质量，g；**500**：细胞数量，万。**Cpr**：样本蛋白质浓度，mg/mL；
关联产品	钙离子测定试剂盒（欧洲药典 2.3.1 A 法）