



钙测试盒说明书

（货号：C004-1-1 分光光度法 30 管/25 样）

一、测定原理：

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。通过比色与同样处理的钙标准进行比较，可计算出钙离子含量。

二、试剂组成与配制：（试剂盒有效期 6 个月）

试剂一： MTB 试剂，40mL×1 瓶，4℃避光保存。

试剂二： 碱性溶液，100mL×1 瓶，室温保存。

试剂三： 澄清剂，5mL×1 瓶，室温保存。温度低时会凝固，用时 37℃水浴加热至透明后方可使用。

2.5mmol/L 钙标准液： 1mL×1 支，4℃避光保存。

三、所需仪器及试剂：

可见光分光光度计及 1cm 光径比色皿（或酶标仪（610nm）及 96 孔板），混匀器，去离子水，蛋白测定试剂（动物组织或细胞样本用，本公司有售）。

四、样本前处理：

血清(浆)等液体样本： 直接使用（若有固体物存在，可 2000 转/分，离心 5 分钟，取上清检测）。

细胞培养液： 吸出部分，4000 转/分，离心 5 分钟，取上清检测。

动物组织样本： 准确称取组织重量，按重量(g): 体积(mL)=1:9 的比例，加入 9 倍体积的去离子水，冰水浴条件下匀浆，4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液（上清液需要测定其蛋白浓度）待测。

植物组织样本： **方法一**是先将植物组织用去离子水擦洗干净，再用吸水纸吸干，后剪碎放入研钵中，液氮研磨成粉，称取植物粉末，按重量(g): 体积(mL)=1:9 的比例，加入 9 倍体积的去离子水，涡旋震荡（或研磨仪研磨）1 分钟，4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液待测；**方法二**是在洗净并擦干水分后，直接称重，按重量(g): 体积(mL)=1:9 的比例，加入 9 倍体积的去离子水，冰水浴条件下机械匀浆，4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液待测。（注：一般水分含量较高的植物用方法二来处理，相反水分含量低或者干样推荐用方法一处理）

细胞样本： 收集细胞后，每份细胞（细胞数量尽量不要低于 10⁶ 个，越多越好）加入 0.3mL 的去离子水，冰水浴下超声破碎（功率 200-300W，运行 5 秒，间隔 15 秒，反复 3-5 次），4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液（上清液需要测定其蛋白浓度，如不用蛋白计算，可在破碎前将细胞计数好备用）待测。

注： 以上前处理只针对样本中游离的钙，如需测总钙或是非可溶性的钙，可参考相关文献将样本处理制备成溶液（pH 中性或弱酸性）来测。

五、操作过程：

1、血清等液体样本操作步骤：

	空白管	标准管	测定管
去离子水（mL）	a*		
2.5mmol/L 钙标准液（mL）		a*	
血清（mL）			a*
试剂一（mL）	1.0	1.0	1.0
试剂二（mL）	2.0	2.0	2.0
混匀，室温避光静置 5 分钟，波长 610nm，光径 1cm，去离子水调零，分光光度计测定各管吸光度值 A（或每管吸出 200μL 反应液加到 96 孔板中，酶标仪 610nm 读数）。			

注： a*为加入量，血清 0.01~0.05mL，标准管标准液及空白管去离子水用量与样本相同。

2、组织、细胞匀浆操作步骤：

	空白管	标准管	测定管
去离子水（mL）	a*		
2.5mmol/L 钙标准液（mL）		a*	
匀浆上清液（mL）			a*
试剂一（mL）	1.0	1.0	1.0
试剂二（mL）	2.0	2.0	2.0
试剂三（mL）	0.1	0.1	0.1
混匀，室温避光静置 5 分钟，波长 610nm，光径 1cm，去离子水调零，分光光度计测定各管吸光度值（A）（或每管吸出 200μL 反应液加到 96 孔板中，酶标仪 610nm 读数）。			

注： a*为加入量，10%匀浆 0.03~0.1mL，细胞匀浆 0.1~0.2mL，标准管标准液及空白管去离子水用量与样本相同。

六、计算公式：

（一）、血清（浆）等液体样本的计算：

$$\text{血清（浆）钙含量（mmol/L）} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N$$

（二）、组织（或细胞）样本按蛋白浓度的计算：

$$\text{组织中钙含量（mmol/g 蛋白）} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

（三）、组织样本按质量计算：

$$\text{组织中钙含量（μmol/g 组织）} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{W}{V_{\text{样总}}}$$

（四）、细胞样本按细胞数计算：

$$\text{细胞中钙含量（μmol/10}^6\text{ 细胞）} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{\text{细胞总数}}{V_{\text{样总}}}$$

以上公式中：

C_{标准}：标准液浓度，2.5mmol/L（μmol/mL）；

C_{pr}：组织匀浆蛋白浓度，g/L；

N：样本测试前稀释倍数；

W：组织样本质量，g；

细胞总数：细胞破碎前的细胞数量，10⁶ 个；

V_{样总}：样本前处理时加入匀浆介质的总体积，mL。

七、注意点：

- 1、玻璃器皿需严格清洗，避免钙的污染，建议最好用一次性塑料管或离心管（本公司有售）。
- 2、严重溶血、黄疸或脂血对结果有影响。
- 3、制备组织匀浆时，需避免钙污染。