

钙测试盒说明书 (简化版)

(微板法)

一、测定原理:

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, 可计算出样本中钙的含量。

二、试剂盒组成: (96T)

96T	规格	组份	保存
试剂一	10ml × 1 瓶	MTB 试剂	4℃避光保存 6 个月
试剂二	20ml × 1 瓶	碱性溶液	室温保存 6 个月
试剂三	1ml × 1 瓶	蛋白澄清剂	室温保存 6 个月
试剂四	1ml × 1 支	2.5mmol/L 钙标准液	4℃避光保存 6 个月
1mmol/L 钙标准液 的配制: 用去离子水将 2.5mmol/L 钙标准液进行 2.5 倍稀释 (即 2:3 稀释)			
工作液 I 的配制: 试剂一:试剂二 = 1 : 2 的比例进行配制, 现用现配。(测血清(浆)样本)			
工作液 II 的配制: 试剂一:试剂二:试剂三 = 10 : 20 : 1 的比例进行配制, 现用现配。(测组织样本)			

四、测定步骤:

(一)、血清(浆)操作步骤:

1、操作表:

	空白孔	标准孔	测定孔
去离子水 (μl)	10		
1mmol/L 钙标准液 (μl)		10	
血清(浆) (μl)			10
工作液 I (μl)	250	250	250

混匀, 静置 5 分钟后, 波长 610nm, 酶标仪比色, 测各孔 OD 值。

2、计算公式:
$$\text{血清(浆)中钙含量 (mmol/L)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{标准品浓度 (1mmol/L)} \times \text{样本测试前稀释倍数}$$

(二)、组织或细胞匀浆的操作:

1、样本前处理: 样本处理详见说明书。测

定组织和细胞同时需要测定蛋白浓度。可用本所的总蛋白定量测试盒(考马斯亮蓝法)或者总蛋白定量测试盒(BCA法)进行蛋白浓度的测定。

2、操作表:

	空白孔	标准孔	测定孔
去离子水 (μl)	10		
1mmol/L 钙标准液 (μl)		10	
组织匀浆上清液 (μl)			10
工作液 II (μl)	250	250	250

混匀, 静置 5 分钟后, 波长 610nm, 酶标仪比色, 测各孔 OD 值。

3、计算公式:
$$\text{组织中钙含量 (mmol/gprot)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{标准品浓度 (1mmol/L)} \div \text{待测样本蛋白浓度 (gprot/L)}^*$$