

钙含量检测试剂盒(邻甲酚酞络合铜比色法)(微板法)

产品货号: BA3366

产品规格: 96样

产品简介:

钙(Calcium)是一种金属元素,常温下呈银白色晶体,动物的骨骼、蛤壳、蛋壳都含有碳酸钙。检测生命体钙含量,主要通过检测钙离子浓度实现的。

本试剂盒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575nm处的吸光值,即可计算出总钙含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体11mL×1瓶	2-8°C, 避光	
试剂二	液体11mL×1瓶	2-8°C, 避光	
标准品	液体1mL×1支	2-8°C, 避光	2.5mmol/L的钙标准品

实验器材:

研钵(匀浆机)、天平、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

钙含量检测:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备:

- ① 液体样品:澄清的液体样本如血清可直接检测。
- ② 组织样本:取约0.1g组织样本,加1mL生理盐水研磨,粗提液全部转移到EP管中,12000rpm,常温离心10min,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。

- 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1mL生理盐水,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率200W,超声3s,间隔10s,重复30次);12000rpm离心10min,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。

2. 上机检测:

- ① 酶标仪预热30min(等待仪器过自检程序亦可),设定波长到575nm。
- ② 所有试剂解冻至室温,按照试剂一:试剂二为1:1配制反应mix(4°C避光保存三天)。
- ③ 在96孔板中按下表依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	标准管 (仅测一次)	空白管 (仅测一次)
样本	5		
标准品		5	
蒸馏水			5
反应mix	200	200	200

混匀,室温放置2min,于波长575nm处读取各管吸光度A。

【注】:1. 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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ:807961520 731791866

邮箱:zzlybio@126.com

2. 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 μ L,则反应mix减为180 μ L;标准管仍为5 μ L,蒸馏水20 μ L,反应mix为180 μ L;空白管为蒸馏水25 μ L,反应mix为180 μ L),则改变后的V1需带入公式计算。

结果计算:

1. 按液体体积计算:

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\text{mmol/L}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \\ &= 2.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

2. 按样本质量计算:

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\mu\text{mol/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 2.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

3. 按细胞数量计算:

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 5 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

4. 按蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V1 \times Cpr) \times D \\ &= 2.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div Cpr \times D\end{aligned}$$

C标准---钙标品浓度, 2.5mmol/L=2.5 μ mol/mL;

V标---标准品加入体积, 0.005mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为1;

V1---加入样本体积, 0.005mL;

V---提取液体积, 1mL;

W---取样质量, g;

500---细胞数量, 万。

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com