

CheKine™ 钙含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1117

规格: 48 T/48 S 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、血清（浆）或其他液体
	保质期: 4℃避光保存 6 个月

01 背景与原理

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。虽然人体内 99% 的钙存在于骨骼和牙齿中，但临床上非常关注血液的钙水平，即血钙。血钙水平主要通过甲状旁腺激素调节骨骼储存钙或者释放钙，以避免血钙过高或者过低。血清中的钙主要以三种形式存在：约 50% 的游离钙离子、约 45% 的蛋白结合钙、约 5% 的钙复合物（主要是柠檬酸钙）。钙的水平通常和磷的水平负相关。

本试剂盒检测原理是钙离子与邻甲酚酞络合酮在碱性条件下反应产生紫色复合物，通过检测 575 nm 处的吸光度即可定量检测钙离子含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	18 mL	36 mL	4℃，避光保存
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Standard	1.5 mL	1.5 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 575 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、PBS	标准品稀释/样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、分析天平、制冰机、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Working Reagent II	临用前配制；48 T 加入 15 mL Reagent I，96 T 加入 30 mL Reagent I，充分溶解	现配现用
Working Reagent III	临用前配制；48 T 加入 14 mL Working Reagent II，96 T 加入 28 mL Working Reagent II，充分溶解待用	未用完的试剂 4℃避光保存可稳定 1 周
Standard	即用型；使用前平衡到室温	20 μmol/mL 钙标准液；4℃保存

05-1-2 标准品配制

取 20 $\mu\text{mol/mL}$ 钙标准液，按下表所示，进行下一步稀释。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	Standard 体积	去离子水体积 (μL)	浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
1	50 μL 20 $\mu\text{mol/mL}$ Standard	450	2
2	200 μL of 2 $\mu\text{mol/mL}$	200	1
3	200 μL of 1 $\mu\text{mol/mL}$	200	0.5
4	200 μL of 0.5 $\mu\text{mol/mL}$	200	0.25
5	200 μL of 0.25 $\mu\text{mol/mL}$	200	0.125
6	200 μL of 0.125 $\mu\text{mol/mL}$	200	0.063
7	200 μL of 0.063 $\mu\text{mol/mL}$	200	0.031
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意：1. 推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞或者分装的组织块保存在 -80°C ，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从 -80°C 拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

2. 制备血浆时建议使用肝素，避免使用 EDTA 类的螯合剂，因为螯合剂会和钙离子结合而影响检测结果；

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 去离子水，冰浴匀浆，12000 g， 4°C 离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 细胞：收集 1×10^7 个细胞，用预冷的 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL 去离子水进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次）， 4°C ，12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- 血清（浆）：直接测定。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 575 nm。

2. 检测体系配制：在 96 孔板中按照如下方式去操作：

试剂	测定孔 (μL)	标准孔 (μL)	空白 (μL)
样本	4	0	0
Standard	0	4	0
去离子水	0	0	4
Working Reagent III	196	196	196

3. 吸光度检测：充分混匀，静置 5 min 后测定 575 nm 处吸光值，分别记录为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{空白}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。

3. 样本钙含量计算

● 按样本质量计算

钙离子 ($\mu\text{mol/g}$) = $(V_{\text{样}} \times y) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$

● 按细胞数量计算：

钙离子 ($\mu\text{mol}/10^4$) = $(V_{\text{样}} \times y) \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div N \times n$

● 按液体体积计算

钙离子 ($\mu\text{mol/mL}$) = $(V_{\text{样}} \times y) \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \times n$

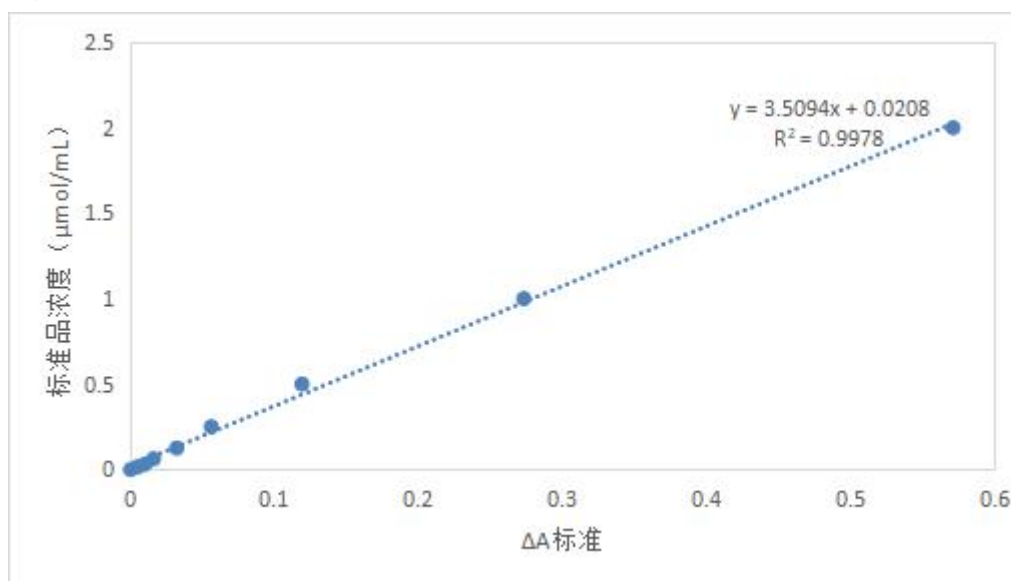
● 按蛋白浓度计算

钙离子 ($\mu\text{mol/mg prot}$) = $(V_{\text{样}} \times y) \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n = y \div \text{Cpr} \times n$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.004 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；W：样本质量，g；n：样本稀释倍数；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；N：细胞数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 1×10^7 ， $N=1000$ ）。

07 结果展示

典型标准曲线： $y=3.5094x+0.0208$ ， $R^2=0.9978$



示例-1：取0.238 g小鼠肝脏，按照测定步骤操作，用96孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.189 - 0.125 = 0.064$ ，代入标准曲线，计算 $y=0.245$ 。按样本质量计算得：钙离子 ($\mu\text{mol/g}$) = $y \div W \times n = 1.029 \mu\text{mol/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{测定}$ 过高或者过低怎么办？

如果 $\Delta A_{测定}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测定}$ 高于 2 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品的 $\Delta A_{标准}$ 值，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 钙含量检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1117)

