

# 组织无机磷含量测定试剂盒

## 微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

# 使 用 说 明 书

货号：BP10478W

有效期：6个月

规格：48T(46S)/96T(94S)

保存温度：2-8℃

**实验原理：**

钼蓝与磷酸根生成在 660nm 有特征吸收峰的物质,通过测定 660nm 光吸收,即可计算无机磷含量。

**检测范围：0.01-5 $\mu$ mol/mL      灵敏度：0.01 $\mu$ mol/mL**

**注意事项：**

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
3. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
4. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

**产品组成:**

试剂名称	规格 (48T/46S)	规格 (96T/94S)	保存条件
试剂一	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8°C, 避光
试剂二	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶	2-8°C
试剂三(A)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C, 避光
试剂三(B)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C, 避光
标准品	1mL×1 瓶	2mL×1 瓶	2-8°C, 避光

**所需仪器耗材及试剂:**

离心机、酶标仪、96 孔板、可调式移液器、恒温箱、蒸馏水。

## 样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.01-5 $\mu\text{mol/mL}$ ，如果样本测定吸光值大于 1.5，需用蒸馏水做相应稀释。如果样本测定吸光值较低或接近空白值，建议增大样本量后重新进行测定。注意同步修改计算公式。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本无机磷的提取**：按照组织质量 (g) : 试剂一体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一) 进行冰浴匀浆，10000 g, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

## 检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液配制**：标准品母液为  $10\mu\text{mol/mL}$  的标准磷溶液。取  $100\mu\text{L}$  标准品母液和  $900\mu\text{L}$  蒸馏水混合配制成  $1\mu\text{mol/mL}$  的标准品溶液。
3. **试剂三 (A)**：临用前取一支加入  $2.5\text{mL}$  蒸馏水溶解，用不完的试剂  $2-8^{\circ}\text{C}$  保存 4 周。
4. **试剂三 (B)**：临用前取一支加入  $2.5\text{mL}$  蒸馏水溶解，用不完的试剂  $2-8^{\circ}\text{C}$  保存 4 周。
5. **工作液**：临用前按试剂三 (A)：试剂三 (B)：试剂二=1：1：1 的体积比例配制，配好的工作液应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，工作液根据样本量现用现配，限当天使用。

**操作步骤:**

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 660nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入) :

试剂名称( $\mu\text{L}$ )	标准孔	测定孔	空白孔
1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准品	10		
样本		10	
蒸馏水	90	90	100
工作液	100	100	100

混匀, 37°C 孵育 10min, 室温冷却 10min 后, 在 660nm 处读取各孔 OD 值。

注:

- (1) 标准管和空白管只需测定 1-2 管。
- (2) 工作液需临用前配制, 并当天使用完毕。
- (3) 40min 内完成比色。

## 实验结果结算：

### 1. 按照蛋白含量计算

$$\text{无机磷含量}(\mu\text{mol/mg prot}) = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{总}} \div \text{Cpr} \times N = 1 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{Cpr} \times N$$

### 2. 按照样本质量计算

$$\text{无机磷含量}(\mu\text{mol/g}) = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{总}} \div W \times N = 1 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times N$$

### 注：

$\Delta A_{\text{测定}}$ ：测定孔 OD 值-空白孔 OD 值     $\Delta A_{\text{标准}}$ ：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值

$C_{\text{标准}}$ ：1 $\mu\text{mol/mL}$

$V_{\text{总}}$ ：上清液总体积，1mL=0.001L

W：样品质量，g

Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL

N：样本的稀释倍数

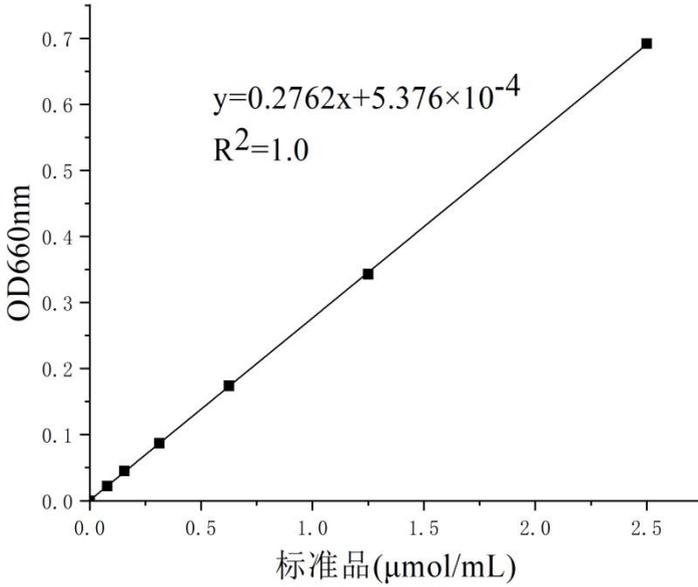
**参考样本数据：**

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
小鼠肝脏 (10%匀浆)	2 倍稀释	20.251 $\mu$ mol/g
大鼠肝脏 (10%匀浆)	2 倍稀释	17.036 $\mu$ mol/g
大鼠肾脏 (10%匀浆)	2 倍稀释	15.926 $\mu$ mol/g

参考曲线:

$y=0.2762x+5.376\times 10^{-4}$ ,  $R^2=1.0$ ,  $x$  是标准品浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ ),  $y$  是 $\Delta A$ 。



注意：标准曲线仅供参考，用户不用制作。