

# 组织无机磷含量 检测试剂盒微板法

## 使用说明书

产品货号：BP10478W

注意：请在试剂盒保质期内使用，具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用，不能用于临床诊断。

检测范围：0.01-5  $\mu\text{mol/mL}$

灵敏度：0.01  $\mu\text{mol/mL}$

有效期：6个月

保存温度：2-8 $^{\circ}\text{C}$

### 检测原理:

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。

### 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。

**试剂盒组分：**

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℃，避光
试剂二	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶	2-8℃
试剂三(A)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光
试剂三(B)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光
标准品	1mL×1 瓶	2mL×1 瓶	2-8℃，避光

**所需仪器耗材及试剂：**

离心机、酶标仪、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( $\mu$ L)	标准孔	测定孔	空白孔
1 $\mu$ mol/mL 标准品	10		
样本		10	
蒸馏水	90	90	100
工作液	100	100	100

混匀, 37 $^{\circ}$ 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

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

### 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

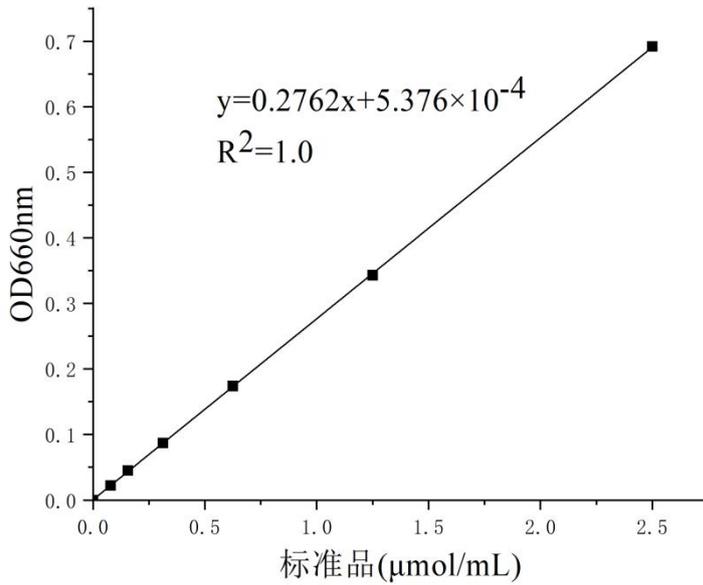
W：样品质量，g

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。