

组织无机磷含量检测试剂盒说明书

Tissue Inorganic Phosphorus Assay Kit

分光光度法

货号: AK356

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK356-A	50ml ×1 瓶	4℃保存;
AK356-B	10ml ×1 瓶	4℃保存;
AK356-C	粉剂 ×1 瓶	4℃避光保存。临用前配制, 加入 20 mL 蒸馏水, 充分溶解后加入 AK356-B (全部), 混匀, 限当天使用;
AK356-D	液体×1 支	4℃保存 (20mmol/L 标准液)

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 无机磷主要指磷酸根, 参与生物体内多种代谢, 包括能量代谢、核酸代谢、蛋白质磷酸化和脱磷酸化等等, 此外促进碳水化合物的合成、转化和转运。

原理: 钼蓝与磷酸根生成 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。

自备用品:

可见分光光度计、离心机、1ml 玻璃比色皿、水浴锅、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

无机磷提取:

按照组织质量(g):AK356-A 体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK356-A)进行冰浴匀浆。10000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热30 min, 调节波长到660 nm, 蒸馏水调零。
2. 打开水浴锅, 调节温度到40℃。
3. 2 mmol/L 标准溶液的配制: 取 100 μL 20 mmol/L 标准液和 900 μL 蒸馏水混合配制成 2mmol/L 的标准溶液。
4. 在 EP 管中按列表中顺序加入上述试剂:

试剂名称	空白管 (ul)	标准管 (ul)	测定管 (ul)
上清液			50
标准品		50	
蒸馏水	500	450	450
AK356-C	500	500	500
混匀后置于40℃水浴保温10min, 室温冷却10 min 后, 于660 nm 测定吸光度, 分别记为: A 空白管、A 标准管、A 测定管。			

注: 空白管和标准管只需测定 1-2 次。

组织无机磷含量计算公式:

$$\text{无机磷含量 (mmol/g)} = [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{W} \\ = 0.002 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

注: C 标准液: 2mmol/L; V 总: 上清液总体积, 1mL=0.001 L; W: 样品质量, g。

注意事项：

AK356-C 需临用前配制，并且当天使用完毕。