

组织无机磷含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2845

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 110 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 A	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 B	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

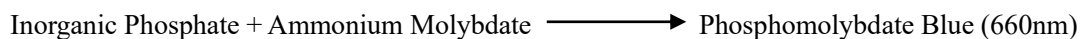
溶液的配制：

- 1、试剂三 A：临用前加入 5 mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8°C保存 4 周；
- 2、试剂三 B：临用前加入 5 mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8°C保存 4 周；
- 3、试剂三：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，配好的试剂三应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，试剂三根据样本量现用现配，限当天使用。
- 4、标准品：10mmol/L 磷标准液。

产品说明：

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。

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。



技术指标：

最低检出限：0.0302 mmol/L

线性范围：0.0625-8 mmol/L

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器和蒸馏水。

操作步骤：

一、无机磷提取（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一，冰上充分匀浆，10000rpm，4°C离心 10min，取上清液，待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 660 nm，分光光度计蒸馏水调零。

2. 打开水浴锅，调节温度到 40°C。

3. 1 mmol/L 标准溶液的配制：取 100μL 10 mmol/L 磷标准液和 900μL 蒸馏水混合配制成 1mmol/L 的标准溶液。

4. 测定：

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	测定管
标准液	-	10	-
上清液	-	-	10
蒸馏水	100	90	90
试剂三	100	100	100

混匀后置于 40°C 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。空白管和标准管只需测 1-2 次。**注意：需在 40min 内完成比色。**

三、组织无机磷含量计算

$$\begin{aligned} \text{组织无机磷含量(mmol/g 质量)} &= [C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})] \times V \text{ 总} \div W \\ &= 0.001 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W \end{aligned}$$

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

注意事项：

1、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。

实验实例：

1、取 0.1g 肾脏加入 1mL 试剂一，离心取上清之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得 A 测定=0.696，A 空白=0.051，A 标准=0.282，按样本质量计算无机磷含量得：

$$\begin{aligned} \text{无机磷含量(mmol/g 质量)} &= 0.001 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W \\ &= 0.001 \times (0.696 - 0.051) \div (0.282 - 0.051) \div 0.1 = 0.028 \text{ mmol/g 质量。} \end{aligned}$$

2、取 0.1g 肝脏加入 1mL 试剂一，离心取上清之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得 A 测定=0.578，A 空白=0.051，A 标准=0.282，按样本质量计算无机磷含量得：

$$\begin{aligned} \text{无机磷含量(mmol/g 质量)} &= 0.001 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W \\ &= 0.001 \times (0.578 - 0.051) \div (0.282 - 0.051) \div 0.1 = 0.023 \text{ mmol/g 质量。} \end{aligned}$$

相关发表文献：

Bu J, Yu J, Wu Y, et al. Hyperlipidemia affects tight junctions and pump function in the corneal endothelium[J]. The American Journal of Pathology, 2020.

相关系列产品：

BC2860/BC2865 血清总铁结合能力 (TIBC) 检测试剂盒

BC2850/BC2855 组织总磷含量检测试剂盒

BC4350/BC4355 组织铁含量检测试剂盒

BC4380/BC4385 血氨含量检测试剂盒