

## 组织无机磷含量测定试剂盒说明书

### 微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义：

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。

#### 测定原理：

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。

#### 组成：

| 产品名称   | IS016-100T/96S | Storage |
|--------|----------------|---------|
| 试剂一：液体 | 100ml          | 4°C     |
| 试剂二：液体 | 5ml            | 4°C     |
| 试剂三：粉剂 | 1 瓶            | 4°C     |
| 标准品：液体 | 1 支            | 4°C     |
| 说明书    | 一份             |         |

试剂三：粉剂×1 瓶，4°C 避光保存。临用前配制，加入 10 ml 蒸馏水，充分溶解后加入试剂二（全部），混匀。

#### 自备仪器和用品：

离心机、水浴锅、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、和蒸馏水。

#### 无机磷提取：

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。10000rpm，4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定：

1. 分光光度计/酶标仪预热 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°C。
3. 空白管：取 0.5ml EP 管，依次加入 100 $\mu$ l 蒸馏水，100 $\mu$ l 试剂三，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，记为 A 空白管。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



4. **标准管**：取 0.5ml EP 管，依次加入 10 $\mu$ l 标准液，90 $\mu$ l 蒸馏水，100 $\mu$ l 试剂三，混匀后置于 40 $^{\circ}$ C 水浴保温 10min，室温冷却 10 min 后于 660 nm 测定吸光度，记为 A 标准管。

5. **测定管**：取 0.5ml EP 管，依次加入 10 $\mu$ l 上清液，90 $\mu$ l 蒸馏水，100 $\mu$ l 试剂三，混匀后置于 40 $^{\circ}$ C 水浴保温 10min，室温冷却 10 min 后于 660 nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

**注意**：空白管和标准管只需测定一次。

### 组织无机磷含量计算：

(1) 按照蛋白含量计算

$$\text{无机磷含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{Cpr} \\ = 1 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

$$\text{无机磷含量}(\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) = [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{W} \\ = 1 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

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

### 注意事项：

1. 试剂三需临用前配制，并且当天使用完毕。
2. 40min 内完成比色。
3. 最低检出限为 10 $\mu$ mol/L。

