

CheKine™ 组织无机磷含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2170

规格: 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织
	保质期: 4℃, 避光保存 12 个月

01 背景与原理

无机磷主要指无机磷酸根, 参与生物体内多种代谢, 包括能量代谢、核酸代谢、蛋白质磷酸化和去磷酸化等, 此外还可以促进碳水化合物的合成、转化和转运。

本试剂盒检测原理是钼酸铵与无机磷酸根生成在 660 nm 有特征吸收峰的物质, 通过测定 660 nm 吸收度, 即可计算无机磷含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格 (96 T)	储存要求
Reagent I	120 mL	4℃
Reagent II	3 mL	4℃
Reagent III	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Reagent IV	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Standard	1 mL	4℃

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 660 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	配制试剂/检测用
其他	水浴锅、匀浆器、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；有腐蚀性，注意防护
Working Reagent III	临用前配制；加入 1.5 mL 去离子水充分溶解待用（可置于 37℃水浴 5 min 促进溶解）	未用完的试剂 4℃避光保存 1 周
Working Reagent IV	临用前配制；加入 6 mL 去离子水充分溶解待用	未用完的试剂 4℃避光保存 1 周
Standard	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；1 μmol/mL

05-2 样本制备

- 注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。
- 动植物组织：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 660 nm。
2. 定磷剂的配制：按照去离子水: Reagent II: Working Reagent III: Working Reagent IV=10:5:2:8 的比例配制（请根据实际需要进行配制），仅当天使用，建议 40 min 内完成检测。
3. 检测体系配制：在 1.5 mL 离心管中按照如下方式操作，空白管和标准管只需做 1-2 次：

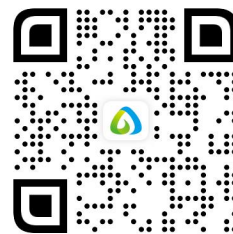
试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
样本	0	0	10
去离子水	100	90	90
Standard	0	10	0
定磷剂	100	100	100
混匀，置于 40℃水浴保温 10 min，室温冷却 10 min			

4. 吸光度检测：取 200 μL 上清液加入 96 孔板，于 660 nm 处测定吸光值，分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{测定}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 无机磷含量的计算

- 按蛋白浓度计算：

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

- 按样本质量计算：

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

$C_{\text{标准}}$ ：1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.01 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Reagent I 体积，1 mL； W ：样本质量，g； n ：样本稀释倍数。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠肌肉，按上述步骤操作，用 96 孔板测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 1.201 - 0.042 = 1.159$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.290 - 0.042 = 0.248$ ，按样本质量计算含量得：无机磷含量($\mu\text{mol}/\text{g}$) = $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times n = 46.73 \mu\text{mol}/\text{g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1.2$ ，样本需用 Reagent I 适当进行稀释后，再进行实验，结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.01$ ，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4011	CheKine™ 土壤无机磷 (S-PHOS) 含量检测试剂盒(微量法)
KTB3050	CheKine™ 水土中亚硝酸盐含量检测试剂盒

CheKine™ 组织无机磷含量检测流程示意图

(Abbking 货号：KTB2170)

样本处理



1 mL Reagent I，冰浴匀浆



10000 g，4℃离心10 min，取上清

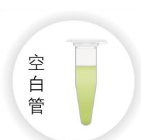


体系配置

定磷剂：
按照去离子水: Reagent II：
Working Reagent III: Working
Reagent IV=10:5:2:8的比例按
需配制，仅当天使用，建议40
min内完成检测



样本 10 μ L
去离子水 90 μ L
定磷剂 100 μ L



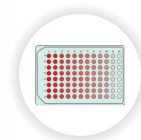
去离子水 100 μ L
定磷剂 100 μ L



去离子水 90 μ L
Standard 10 μ L
定磷剂 100 μ L

混匀，置于40℃水浴保温10 min
室温冷却10 min
取200 μ L上清液至96孔板中

数据检测



测定660 nm吸光度
结果计算