

钾测试盒

(货号: BC062 微板法 96T)

一、测定原理:

在碱性介质中, 经蛋白沉淀剂处理后的血清样本中的钾离子与 NA—TPB 反应产生混浊并有稳定的悬浮液。混浊度与样本中钾离子浓度成正比。

二、试剂组成及配制: (试剂盒有效期 6 个月)

	组份	规格	保存
试剂一	甲液	20mL×1 瓶	4℃
	乙液	2.5mL×1 瓶	4℃
	蛋白沉淀剂的配制: 按甲液:乙液=8:1 的比例进行配制, 现用现配。		
试剂二	NA-TPB 工作液	25mL×1 瓶	4℃
试剂三	0.8mmol/L 钾标准液	1mL×1 支	4℃
	0.4mmol/L 钾标准液配制: 按 0.8 mmol/L 钾标准液:去离子水=1:1 的比例混合,用多少配多少		

三、样本及仪器要求:

- 1、按常规检验要求采集处理样本,样本可以是血清(浆)、组织匀浆及细胞、培养上清液。
- 2、样本 2~8℃可稳定 3~4 天,-20℃以下可稳定数月。
- 3、本法用于酶标仪 (440±10nm) 测定。

四、操作步骤:

1、样本前处理:

血清(浆)样本:取血清(浆)20μL 加蛋白沉淀剂 180μL, 3500 转/分离心 5 分钟, 取上清液 50μL 进行测定。

其它液体样本:可根据蛋白浓度,调整与蛋白沉淀剂的比例(如 1:4 等等)和蛋白沉淀剂混合, 3500 转/分离心 5 分钟, 取上清液 50μL 进行测定。

组织样本:准确称取组织重量,按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例加入 9 倍的去离子水, 冰水浴匀浆, 2500 转/分离心 10 分钟,取上清液 20μL 加蛋白沉淀剂 180μL, 3500 转/分离心 5 分钟, 取上清液 50μL 进行测定。

2、操作表:

	空白孔	标准孔	样本孔
去离子水(μL)	50		
0.4mmol/L 钾标准液(μL)		50	
待测样本上清液(μL)			50
工作液(μL)	200	200	200
混匀, 放置 5 分钟, 440nm, 酶标仪比色, 测各孔吸光度			

注:实验前可先将 96 孔板用酶标仪读取并记录空板 OD 值, 以保证实验的精确度。

五、计算公式:

1、血清(浆)等液体样本计算公式:

地址: 武汉市东湖新技术开发区高科园二路盛齐安生物产业园 4 号楼

$$\text{血清(浆)钾含量 (mmol/L)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N \times 10$$

2、组织按蛋白计算公式:

$$\text{组织中钾含量 (mmol/gprot)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times 10 \div C_{\text{pr}}$$

3、组织按重量计算公式:

$$\text{组织中钾含量 (mmol/g组织)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times 10 \div \frac{W}{V_{\text{提}}}$$

以上公式中:

C_{标准} 为标准品浓度,0.4mmol/L;

N 为样本测试前(加沉淀剂后,与工作液混合前)稀释倍数;

10 为样本加蛋白沉淀剂时的稀释倍数;

C_{pr} 为组织匀浆液蛋白浓度,gprot/L(prot 指蛋白);

W 为组织重量,g;

V_提 为组织匀浆时加入的提取液的总体积,L。

六、计算举例:

例 1:取大鼠血清(浆) 20μL 按说明书操作测得:空白孔 OD 值为 0.0697,标准孔 OD 值为 0.4830,测定孔 OD 值为 0.5763,则计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{血清(浆)钾含量 (mmol/L)} &= \frac{0.5763 - 0.0697}{0.4830 - 0.0697} \times 0.4 \times 10 \times 1 \\ &= 4.9034 \text{ mmol/L} \end{aligned}$$

例 2:取鱼血清(浆) 20μL 按说明书操作测得:空白孔 OD 值为 0.0697,标准孔 OD 值为 0.4830,测定孔 OD 值为 0.2621,则计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{血清(浆)钾含量 (mmol/L)} &= \frac{0.2621 - 0.0697}{0.4830 - 0.0697} \times 0.4 \times 10 \times 1 \\ &= 1.8619 \text{ mmol/L} \end{aligned}$$

例 3:取 10%某组织匀浆上清液 20μL 按说明书操作测得:空白孔 OD 值为 0.0697,标准孔 OD 值为 0.4830,测定孔 OD 值为 0.6699,测得 10%乌贼鳃匀浆上清液蛋白浓度为 4.5851; 则计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{组织中钾含量 (mmol/gprot)} &= \frac{0.6699 - 0.0697}{0.4830 - 0.0697} \times 0.4 \times 10 \div 4.5851 \\ &= 1.2670 \text{ mmol/gprot} \end{aligned}$$

例 4:取 10%脑组织匀浆上清液 20μL 按说明书操作测得:空白孔 OD 值为 0.0697,标准孔 OD 值为 0.4830,测定孔 OD 值为 0.4350,测得 10%兔脑组织匀浆上清液蛋白浓度为 3.7909; 则计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{组织中钾含量 (mmol/gprot)} &= \frac{0.4350 - 0.0697}{0.4830 - 0.0697} \times 0.4 \times 10 \div 3.7909 \\ &= 0.9326 \text{ mmol/gprot} \end{aligned}$$

七、技术参数:

线性范围	0.01 ~ 0.8mmol/L	批内差	≤4%
批间差	≤6%	试剂盒保质期	6 个月

八、注意点:

- 1、红细胞含高浓度的钾离子, 因而溶血样本不可用。

- 2、氨、汞、氯可干扰钾的测定。
- 3、制备组织匀浆液时,最好选用去离子水做为匀浆介质,应避免钾污染。
- 4、如需制作标准曲线,也可根据标准曲线来计算(只需将样本 OD 值减去空白 OD 值后代入标曲计算得到的值替换计算公式中的 $\frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}}$ 即可)。
- 5、测定组织或细胞中钾离子含量,推荐同时测定总蛋白浓度(本公司有售总蛋白定量试剂盒 BC016)
- 6、本试剂盒仅用于科研。

附录 I：钾标准曲线的制备

1、前处理:

用去离子水将 0.8mmol/L 钾标准液进行梯度稀释成不同的浓度:0.025mmol/L、0.05mmol/L、0.1 mmol/L、0.2 mmol/L、0.4 mmol/L。

2、操作表:

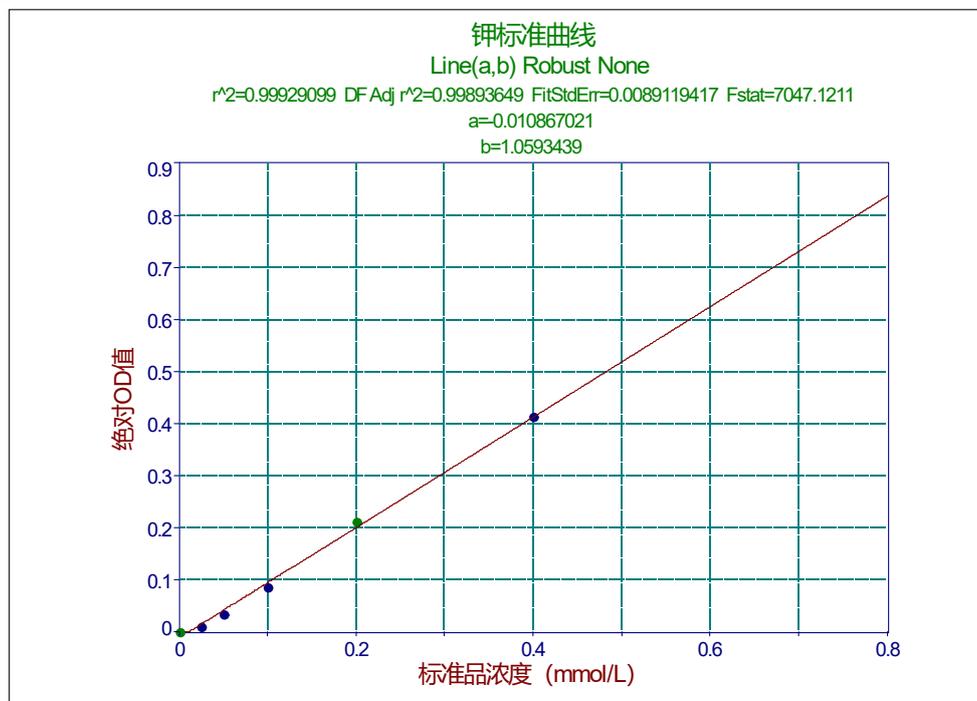
	空白孔	标准孔
去离子水(μL)	50	
不同浓度的钾标准液(μL)		50
工作液(μL)	200	200

混匀，放置 5 分钟，440nm，酶标仪比色，测各孔吸光度

3、测定结果:

标准品浓度 (mmol/L)	测定 OD 值	绝对 OD 值
0	0.0697	0
0.025	0.0802	0.0105
0.05	0.1042	0.0345
0.1	0.1564	0.0867
0.2	0.2818	0.2121
0.4	0.483	0.4133
0.8	0.905	0.8353

4、绘图:



(标准曲线用户可以不画,用计算公式计算即可)