天净沙系列

CAT#: 7-C590-54-5

低温运输，-20℃保存

天净沙

乙酰磷酸含量测定试剂盒

Acetyl Phosphate Assay Kit

使用手册 V1.2

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

乙酰磷酸（Acetyl Phosphate，CAS:590-54-5）是生物体内代谢的中间物，非常不稳定，但在微生物和生物化学研究中有一定的重要性。因此，检测乙酰磷酸的含量具有重要意义。为此本公司开发了乙酰磷酸含量测定试剂盒。其原理是乙酰磷酸与羟胺反应生成乙酰异羟肟酸，后者与铁离子形成在 540 nm 有光吸收的物质，通过测定 540 nm 光吸收即可测定乙酰磷酸的含量。本产品有如下特点：

1. 操作简单快捷。
2. 即开即用，用户不用单独准备各种试剂。
3. 提供乙酰基磷酸二锂作为阳性对照。
4. 适用于检测各种材料中的乙酰磷酸含量。
5. 检测下限 31.25 μM、线性范围 62.5 μM-1 mM。
6. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用热封袋包装

成份	编号	规格	包装
乙酰磷酸底物液	7-C590-54-5a	17 mL	30 mL 本色瓶
乙酰磷酸显色液	7-C590-54-5b	50 mL	60 mL 棕色瓶
乙酰基磷酸二锂干粉	CAS:16333-96-3	3 mg	30 mL 本色瓶
使用手册	7-C590-54-5sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存。有效期一年。

自备物品

超纯水、分光光度计

使用方法

一、首次使用本试剂盒时试剂的配制

1. 配置 1 mM 标曲液：在装有乙酰基磷酸二锂干粉的瓶中加入 20 mL 自备超纯水，颠倒摇晃 20 次溶解得到 1 mM 标曲液。没用完的此溶液建议分装小份后-80℃保存。注意：由于乙酰磷酸不稳定，本试剂盒不提供乙酰磷酸作为标准品，1 mM 标曲液显色效果相当于 1 mM 乙酰磷酸溶液。

二、每次实验标准曲线梯度稀释液的制备

2. 每次测量都应制作标准曲线，下面以制备 6 个浓度梯度的标曲液和 1 个空白对照为例。
3. 标记 0-6 号共 7 个 2 mL 离心管，并在 0-5 号管中加入 0.5 mL 的超纯

水，只 6 号管不加。

4. 在 6 号管中加入 0.5 mL 在第 1 步制备的 1 mM 标曲液。
5. 在 5 号管中也加入 0.5 mL 1 mM 标曲液，充分震荡 1 分钟。由于管中已经有 0.5 mL 反应液，故得 0.5 mM 标曲液。
6. 在 4 号管中加入 0.5 mL 5 号管中的 0.5 mM 标曲液，充分震荡 1 分钟，得 0.25 mM 标曲液。
7. 在 3 号管中加入 0.4 mL 4 号管中的 0.25 mM 标曲液，充分震荡 1 分钟，得 0.125 mM 标曲液。
8. 重复上面的操作直到得到 1 号管的标曲液。0 号管对照管不需要加入 1 号管的标曲液。最后所得 0-6 号管中标曲液浓度分别为 0、31.3 μM、62.5 μM、125 μM、250 μM、0.5 mM、1 mM。放冰上待用。

三、设置反应，用于光径 1 cm 的比色皿测定

9. 假设有 N 个样本，每个样本做一次重复，则标记 N+7 个 1.5 mL 离心管，其中 N 个用于待测样本，多出的 6 个用于标准曲线制备，另外一个用做阴性对照。
10. 按下表在各管中加入各成分。根据分光光度计一次可以同时测定的样本数决定每次加几个样本:

成分	N 个样本管	阴性对照	6 个标曲管
样本	各 330 μL	330 μL	各 330 μL
乙酰磷酸底物液	各 170 μL	170 μL	各 170 μL
混合均匀后室温静置 10 min			
乙酰磷酸显色液	各 500 μL	500 μL	各 500 μL
12000×g 离心 5 分钟，取上清检测吸光度			

11. 使用分光光度计测定每个样本在 540 nm 的吸光度。共得 N+7 个读数。

四、数据处理

12. 计算真实 OD540 光吸收，真实 OD540=样本 OD540-阴性 OD540。共 N+6 个读数。
13. 制备标准曲线：以对应乙酰磷酸溶液的浓度为横轴，以其真实 OD540 吸光值为纵轴，绘制标准曲线。
14. 将 N 个待测样品的 OD540 值带入标准曲线方程，即可计算出每个待测样品中的乙酰磷酸的浓度。

四、多孔板酶标仪检测

	15. 同上，只是所有反应体系按比例缩小使得终体积跟酶标用多孔板板兼容，最后在 540 nm 测定吸光值。
关联产品	乙酰磷酸含量测定试剂盒（酶联法）