天净沙系列

CAT#:27-CAS2437-29-8

低温运输，4℃保存

天净沙

孔雀石绿磷酸盐检测试剂盒

Malachite Green Phosphate Assay Kit

使用手册 V1.0

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

本产品为孔雀石绿磷酸盐检测试剂盒，用于快速、便捷、高灵敏地测定溶液中可溶性自由无机磷酸根。其原理是孔雀石绿、钼酸盐和游离的无机正磷酸盐形成绿色磷钼酸复合物，这种绿色磷钼酸复合物在 620 处的吸光度与溶液中游离的无机磷酸盐浓度成正比。本试剂盒具有下列特点：

1. 即开即用，用户步需要单独准备和优化每个成分。
2. 不但可以检测游离无机磷酸根，还可以用于测定产物含磷酸根的很多酶的活性，如 ATP 酶（ATPase）的活性。
3. 对于脂和蛋白所结合的磷酸根，必须先将其释放后才可以检测。本产品不含相关试剂。
4. 本试剂盒足够 500 次 96 孔板微量检测，每次需要使用 0.1 mL 的液体样本。
5. 整个操作简单、检测速度快，仅需约 60 min 即可完成无机磷酸盐的测定。
6. 提供标准品，便于制备标准曲线。也可作为阳性对照。
7. 灵敏度高、线性范围在 0.05-0.3 μg/mL 之间。

本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成分	编号	规格	包装
孔雀石绿磷酸盐检测显色液成分 A	27-CAS2437-29-8a1	50 mL	60 mL 本色瓶
孔雀石绿磷酸盐检测显色液成分 B	27-CAS2437-29-8a2	100 mL	125 mL 棕色瓶
孔雀石绿磷酸盐检测终止液	27-CAS2437-29-8b	25 mL	30 mL 本色瓶
磷酸盐标准品，1 μg/mL	27-CAS2437-29-8c	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	27-CAS2437-29-8sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，4℃保存，保存期限为 1 年。

自备试剂

根据所做实验准备相应试剂及耗材。

使用方法

一、显色液的配制

1. 在实验前 1 小时，将孔雀石绿磷酸盐显色液成分 A 和孔雀石绿磷酸盐显色液成分 B 按 1：3 的比例混合均匀。例如，10 mL 孔雀石绿磷酸盐显色液成分 A 和 30 mL 孔雀石绿磷酸盐显色液成分 B 即可获得 40 mL 显色剂。显色液需要现用现配。如果有沉淀，可以用针头过滤器过去去掉沉淀，保留液体放常温待用。

二、标准曲线样本的配制

2. 按照下表配制 0、0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3 mg/mL 的磷酸盐标准品。

注意：需要用不含磷酸根的去离子水。

管号	标准品（μL）	超纯水（μL）	磷酸根浓度（in μg/mL）
0	0	200	0
1	10	190	0.05
2	20	180	0.10
3	30	170	0.15
4	40	160	0.20
5	50	150	0.25
6	60	140	0.30

三、磷酸根浓度的测定

3. 如果有 N 个样本，每个样本做 1 次重复，则设置 N+7 个反应。其中多出的 7 个是标准曲线样本。如果做两次重复，则设置 2N+7 个反应。如果做三次重复，则设置 3N+7 个反应，以此类推。
4. 在每个 96 孔板的孔中，加入 0.1 mL 待测样本或标准曲线样本。若样品体积不足 0.1 mL，则用去离子水补齐，记录此样品的稀释倍数以在计算浓度时使用。
5. 每个样本孔中加入 0.2 mL 第 1 步制备的显色液，混匀后静置 5 分钟。
6. 每个样本孔中加入 0.05 mL 终止液，混匀后静置 60 分钟。
7. 用酶标仪测定 620 nm 的吸光度。

四、数据处理

8. 计算真实吸光度：所有样本的吸光度均减去空白管（0 号管）的吸光度则为真实吸光度。
9. 制作标准曲线：以标准曲线样本的浓度为横轴，以真实吸光度为纵轴制备标准曲线并得到计算方程式。

计算待测样本的浓度：将待测真实吸光度代入到上步的计算方程式中计算出待测样本的磷酸根浓度（单位是 μg/mL）。

关联产品 ATPase 活性检测试剂盒