



钾测试盒说明书(精简版)

(货号: C001-2-1 微板法 96T)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,

否则由此导致的后果用户自行承担!

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、样本要求:

- 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。
- 样本 2~8℃可稳定 3~4 天,-20℃以下可稳定数月。

四、所需仪器及试剂:

可调 440nm 波长的酶标仪及 96 孔板(附送一块),离心机,涡旋混匀器,离心管,去离子水。

五、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。

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。

六、计算公式:

1、血清计算公式:

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

2、组织计算公式:

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

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

C_{标准}:标准品浓度,0.4mmol/L;

N:样本测试前(加沉淀剂后,与工作液混合前)稀释倍数;

10:样本加蛋白沉淀剂时的稀释倍数;

Cpr:组织匀浆液蛋白浓度,gprot/L(prot 指蛋白);

W:组织重量,g;

V_提:组织匀浆时加入的提取液的总体积,L。

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:

- 红细胞含高浓度的钾离子,因而溶血样本不可用。
- 氨、汞、氯可干扰钾的测定。
- 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。
- 本试剂盒可上全自动/半自动生化分析仪。
- 测定组织或细胞中钾离子含量,推荐同时测定总蛋白浓度(本所有售总蛋白定量试剂盒 A045-1 总蛋白试剂盒(双缩脲)、A045-2 总蛋白试剂盒(考马斯亮蓝)、A045-3 总蛋白试剂盒(BCA 法))
- 本试剂盒仅用于科研。

附录 I: 钾标准曲线的制备

1、前处理:

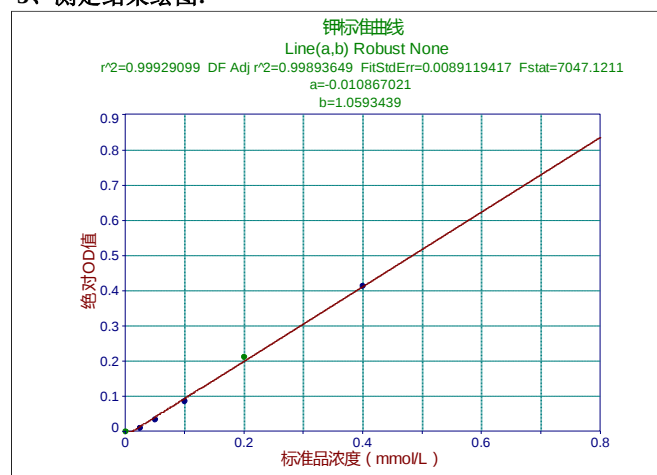
用去离子水将 0.8mmol/L 钾标准液进行梯度稀释成不同的浓度:0.025mmol/L、0.05mmol/L、0.1 mmol/L、0.2 mmol/L、0.4 mmol/L。

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,450nm,酶标仪比色,测各孔吸光度

3、测定结果绘图:



(标准曲线用户可以不,用计算公式计算即可)



附录Ⅱ：血清样本中钾测定

1、前处理：

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

2、操作表：

	空白孔	标准孔	样本孔
去离子水(μ L)	50		
0.4mmol/L 钾标准液(μ L)		50	
待测样本上清液(μ L)			50
工作液(μ L)	200	200	200
混匀，放置 5 分钟，450nm，酶标仪比色，测各孔吸光度值 A			

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。

附录Ⅲ：组织样本中钾测定

1、前处理：

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 20 μ L 加蛋白沉淀剂 180 μ L，3500 转/分离心 5 分钟，取上清 50 μ L 进行测定。

2、操作表：

	空白孔	标准孔	样本孔
去离子水(μ L)	50		
0.4mmol/L 钾标准液(μ L)		50	
待测样本上清液(μ L)			50
工作液(μ L)	200	200	200
混匀，放置 5 分钟，450nm，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。