

钾离子比浊法测定试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号: JL-T2422

有效期: 6个月

规格: 48T(40S)/96T(88S)

保存温度: 2-8℃

实验原理：

在碱性条件下，四苯基硼酸钠与待测液中的钾离子反应，形成溶解度小的四苯基硼酸钾白色细小颗粒，在溶液中呈悬浮状态，形成浊液，在一定范围内与钾离子浓度成正比。本试剂盒在检测组织和细胞样本时，需要测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：JL-T0336)。

检测范围：0.01-1mol/L 灵敏度：0.01mol/L

注意事项：

1. 不能测定溶血样本，由于红细胞中含有高浓度的钾离子，故样本应避免溶血。
2. 铵根离子、氯离子对检测结果有影响。
3. 采血后宜尽早进行血清钾测定，时间过长会影响血清钾含量。
4. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
5. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
6. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
7. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。

试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成:

| 试剂名称 | 规格 (48T/40S) | 规格 (96T/88S) | 保存条件 |
|------|--------------|--------------|-----------|
| 试剂一 | 10mL×1 瓶 | 20mL×1 瓶 | 2-8°C |
| 试剂二 | 1.25mL×1 瓶 | 2.5mL×1 瓶 | 2-8°C |
| 试剂三 | 11mL×1 瓶 | 11mL×2 瓶 | 2-8°C |
| 试剂四 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | 2-8°C, 避光 |
| 标准品 | 1.5mL×1 瓶 | 3mL×1 瓶 | 2-8°C |

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、96 孔板、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱。

样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.01-1mmol/L，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**：取 0.020-1.0g 新鲜组织块，用 2-8℃的蒸馏水漂洗，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量 (g)：体积 (mL) =1:9 的比例加入 2-8℃的蒸馏水，进行匀浆，4℃，10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。
4. **收集细胞**：按照 10^6 个细胞加入 200 μ L 匀浆介质的比例加入去蒸馏水，进行机械匀浆，充分破碎（无明显的细胞沉淀，可在显微镜下观察），不离心，置于冰上待测。若不能当天检测，细胞于-80℃保存，可保存一个月。
5. **血清（浆）等液体样本**：直接测定。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **蛋白沉淀剂**：使用前将试剂一：试剂二按 8：1 的体积比混匀，现用现配，2-8℃保存 7 天。
3. **显色剂配制**：将一瓶试剂三倒入一瓶试剂四中，充分混匀溶解，现用现配，2-8℃保存 7 天。
4. **标准品溶液的配制**：标取 100μL 标准品加 900μL 蒸馏水为 1mmol/L 标准品母液。把标准品母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8mmol/L。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

| 编号 | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ |
|---------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标准品浓度 (mmol/L) | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.8 |
| 1mmol/L 标准 品(μL) | 0 | 25 | 50 | 75 | 100 | 125 | 150 | 200 |
| 蒸馏水(μL) | 250 | 225 | 200 | 175 | 150 | 125 | 100 | 50 |

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤：

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。
2. 上清液的制备：按样本：蛋白沉淀剂为 1：9 的体积比混匀(例如取 20 μ L 样本于 1.5mL EP 管中，加入 180 μ L 蛋白沉淀剂混匀)，1100 g，离心 10min，取上清液待测。
3. 样本测定（在 96 孔板中依次加入）：

| 试剂名称(μ L) | 标准孔 | 测定孔 |
|------------------------------|-----|-----|
| 不同浓度的标准品 | 50 | |
| 上清液 | | 50 |
| 显色剂 | 200 | 200 |
| 室温静置 5min，在 450nm 处测各孔 OD 值。 | | |

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：** $y=ax+b$ 。

2. **血清(浆)、细胞上清、乳汁中钾离子浓度计算公式：**

钾离子含量(mmol/L) = $(\Delta A - b) \div a \times 10 \times N$

3. **组织匀浆、细胞中钾离子浓度计算公式：**

钾离子含量(mmol/L) = $(\Delta A - b) \div a \times 10 \times N \div Cpr$

注：

y：标准品 OD 值-空白孔 OD 值 ΔA ：样本孔 OD 值-空白孔 OD 值
(标准品浓度为 0 时的 OD 值) (标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度 10：上清液制备过程中稀释倍数，10 倍

a：标曲的斜率 N：样本稀释倍数

b：标曲的截距 Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL

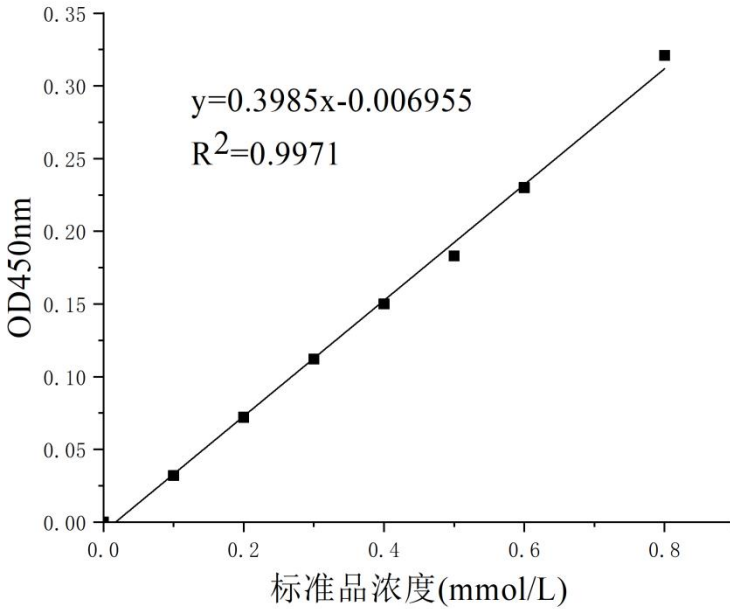
参考样本数据:

以下数据仅供参考:

| 样本类型 | 稀释倍数 | 参考值 |
|-------------|-------|----------------|
| 大鼠肝脏(10%匀浆) | 2 倍稀释 | 1.04mmol/gprot |
| 大鼠肾脏(10%匀浆) | 2 倍稀释 | 1mmol/gprot |

参考曲线:

$y=0.3985x-0.006955$, $R^2=0.9971$, x 是标准品的浓度 (mmol/L), y 是 ΔA 。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

Note:

Note:

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com