

钠(Na)含量检测试剂盒说明书

(货号: G0899W 微板法 96 样)

一、产品简介:

通过钠依赖性β-半乳糖苷酶催化底物ONPG (O-硝基酚-β-D-吡喃半乳糖)的酶动力学反应检测钠,其产物O-硝基苯酚在405nm 的吸光值与钠浓度成正比。

二、试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|--------------|------|---------------|
| 提取液 | 液体 100mL×1 瓶 | 4℃保存 | |
| 试剂一 | 液体 15mL×1 瓶 | 4℃保存 | |
| 试剂二 | 液体 5mL×1 瓶 | 4℃保存 | |
| 标准管 | 液体 0.2mL×1 支 | 4℃保存 | 浓度为160mmol/L。 |

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96孔板、可调式移液器、离心机、去离子水。

四、钠(Na)含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 液体样本: 直接检测。若浑浊,离心后取上清检测。
- ② 组织样本: 取约 0.1g 组织样本,加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】: 若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例提取。

- ③ 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);12000rpm 离心 10min,取上清待测。

【注】: 若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10⁴):提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min,设定波长到 405nm。
- ② 所有试剂解冻至室温,在 96 孔板中依次加入:

| 试剂名称(μL) | 测定管 | 标准管 (仅做一次) | 空白管 (仅做一次) |
|---|-----|---------------|---------------|
| 样本 | 5 | | |
| 蒸馏水 | | | 5 |
| 标准品 | | 5 | |
| 试剂一 | 150 | 150 | 150 |
| 37℃条件下,孵育 5min。 | | | |
| 试剂二 | 50 | 50 | 50 |
| 混匀,37℃条件下,30s 时于 405nm 处读取吸光值 A1,4min30s 时读取 A2。ΔA=A2-A1。 | | | |

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)(mmol/L)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)(}\mu\text{mol/g 鲜重)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)(}\mu\text{g/g 鲜重)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times 23 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 3680 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)(}\mu\text{mol}/10^6\text{cell)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times D \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times D\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)(}\mu\text{g}/10^6\text{cell)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times 23 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times D \\ &= 3680 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times D\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，160mmol/L=160 μ mol/mL；

V1---加入样本体积，0.005mL；

23---钠的分子量；

5---细胞数量，百万；

V---提取液提取液体积，1 mL；

V2---加入标准品体积，0.005mL

W---质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为1。