

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures

Version 2.0

孔雀石绿磷酸盐检测试剂盒

Malachite Green Phosphate Assay Kit

Do not eat Store at +2 to +8° C & in the dark



Cat.No. MMP2894

Size : 500 / 2500 tests

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com.

E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

产品原理

Malachite Green Phosphate Assay Kit, 即孔雀绿磷酸盐检测试剂盒, 是一种快速、便捷、高灵敏地测定溶液中可溶性自由无机磷酸根试剂盒。本试剂盒可用于溶液中磷酸盐浓度的测定。检测原理是孔雀绿(Malachite green)、钼酸盐(Molybdate)和游离的无机正磷酸盐(Orthophosphate)形成绿色磷钼酸复合物(Molybdophosphoric acid complex), 而这种绿色磷钼酸复合物在620-640 nm处的吸光度与溶液中游离的无机磷酸盐浓度成正比。本试剂盒提供了一种高灵敏度定量检测无机游离磷酸盐的可靠方法, 但本试剂盒只适合于直接测定溶液中的自由磷酸根, 对于脂和蛋白所结合的磷酸根必须在测定之前采用一定的方法进行释放才可以检测。

※ 本试剂盒可以运用于96孔板、384孔板或比色皿中进行分析测定或高通量筛选。

※ 本试剂盒操作简单、检测速度快, 仅需约30 min即可完成无机磷酸盐的测定。

※ 本试剂盒检测灵敏度高、线性范围广, 在0.05-50 uM范围内有良好的检测灵敏度和线性关系。标准品在0.05-50 uM范围内的检测效果请参考图1、图2。

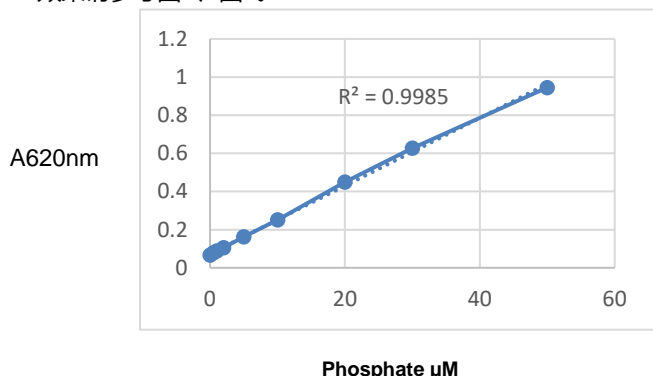


图1. Malachite Green Phosphate Detection Kit标准曲线效果图。实际结果因实验条件、仪器等的不同而存在差异, 数据仅供参考。

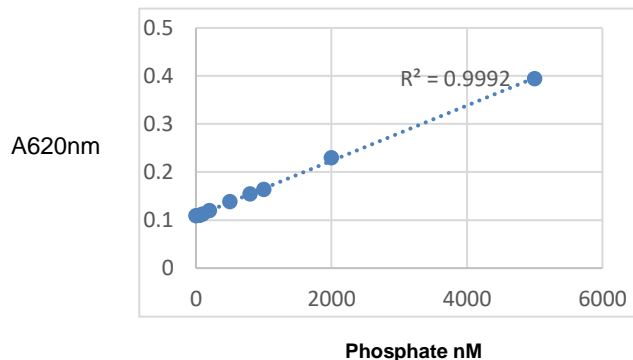


图2. Malachite Green Phosphate Detection Kit标准曲线效果图。实际结果因实验条件、仪器等的不同而存在差异, 数据仅供参考。

产品清单

	500T	2500T
5X Malachite Green Reagent 显色剂	12.5 mL	62.5 mL
5 mM Phosphate Standard	0.5 mL	2.5 mL

使用说明

1. 磷酸盐标准品的制备。

将5 mM磷酸盐标准液配制成50 μM工作液。例如取10 μl的5 mM磷酸盐标准液, 加入990 μl标准品稀释液, 即得1 ml 50 μM磷酸盐工作液。标准品稀释液优先推荐使用去离子水或双蒸水。稀释后的工作液可在4°C至少稳定一天。若使用自行准备的试剂稀释标准品, 需确保该试剂没有磷酸盐污染。

2. 标准曲线的设置。

NO.	50μM Phosphate (μl)	H ₂ O (μl)	Phosphate (μM)
1	0	200	0
2	4	196	1
3	10	190	2.5
4	20	180	5
5	40	160	10
6	80	120	20
7	120	80	30
8	160	40	40
9	200	0	50

3. 磷酸盐浓度的检测。

- a. 加入适量体积的待测样品到1.5 ml离心管中，若样品体积不足100 μ l，用标准品稀释液补齐至100 μ l，记录样品此时的稀释倍数。
- b. 从每管中依次吸取100 μ l不同浓度的磷酸盐标准品和待测样品加到96孔板的样品孔中。
- c. 各孔加入25 μ l显色剂，使用多孔板混匀设备混匀或使用移液器轻轻吹打混匀，室温静置30 min。
- d. 用酶标仪测定620 nm的吸光度。
- e. 根据标准曲线和待测样品的稀释倍数计算出样品的磷酸盐浓度。

注意事项

- ※ 试剂在使用前必须恢复至室温。
- ※ 本实验测定波长在620-660 nm之间，620 nm最佳。如果没有酶标仪，也可使用分光光度计进行测定。在这种情况下，需按比例调整显色剂、样本、标准品的体积，使最终待测体积符合比色皿的最小检测体积。
- ※ 本说明书中所述的加样体积以96孔板为例，若选择比色皿或384孔板，应按比例调整体积。
- ※ 实验室清洁剂含有高浓度的磷酸盐，需确保实验器皿彻底清洗，防止磷酸盐污染。
- ※ 为获得更好的检测效果，推荐对于所有的磷酸盐标准品和待测样品设置平行孔或三复孔。
- ※ 如果检测出来的吸光度偏低，可能是样品中磷酸盐含量较低，需要考虑在本试剂盒许可的范围内加大样品的用量。
- ※ Malachite Green Reagent 呈强酸性，有腐蚀性，操作时请小心，并确保有效防护以避免直接接触人体，并须注意避免腐蚀其它物品。

常见问题

1. 如何降低实验中过高的背景？

孔雀绿磷酸盐检测试剂盒是高灵敏的磷酸盐检测方法。任何外源性的游离磷酸盐都会干扰检测，所以必须确保标准品稀释液和实验室容器中不含有游离磷酸盐。在实验前，所有使用的实验容器均要用蒸馏水或去离子水充分地清洗。

2. 如何去除水溶液中的沉淀？

- a. 二价阳离子(钙、镁、铜和锌)形成的磷酸盐具有低水溶性。为避免沉淀，磷酸盐标准品应使用双蒸水或不含钙、镁、铜和锌等会和磷酸根产生沉淀的阳离子的缓冲液进行稀释。
- b. 样本中磷酸盐浓度过高，也会形成沉淀，建议对样本进行适当稀释后再进行磷酸盐检测。

保存条件

4°C保存, 1年有效。Malachite Green Reagent 需要4°C避光保存。

产品仅供科学研究 禁止用于临床诊断、治疗

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.