钠离子含量检测试剂盒(酶法)说明书

微量法

规格：50T/48S、100T/96S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	50T规格	100T规格	保存条件
提取液	液体60 mL×1瓶	液体110mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一A	液体10mL×1 瓶	液体20mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一B	粉剂×1瓶	粉剂×2瓶	-20℃保存
试剂二	液体4mL×1瓶	液体8mL×1瓶	2-8℃保存
标准品	液体1mL×1支	液体1mL×1支	2-8℃保存

溶液的配制：

1、 试剂一B: 试剂放试剂瓶内玻璃瓶中。临用前取一瓶用2mL 提取液溶解，现配现用，剩余试剂2-8℃可保存三周。每支试剂一B 可做1000T, 但由于效期问题，故多给一支。

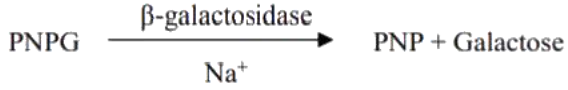
2、 试剂一：取1.5mL 试剂一A 加入0.015mL 试剂一B 混合备用(约10T), 在临加样前现配现用，也可根据样本量按比例配制。

3、 标准品：1000μmol/mL的**NaCl**溶液。

产品说明：

钠离子(Na+)作为生物体内关键的电解质，对维持血清/血浆、动物及植物组织的稳态具有多重影响。在动物系统中，血清Na浓度直接调节血浆渗透压，其失衡可导致细胞脱水或水肿；同时，Na+通过Na+H+交换体参与酸碱平衡调控，影响pH 稳定性。在植物中，Nat过量会破坏渗透调节，诱发离子毒性，抑制K+吸收，并可能通过氧化应激损伤组织。但某些耐盐植物可区隔Na+至液泡中，将其转化为渗透调节剂。

通过钠离子激活的β-半乳糖苷酶催化底物对硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷（PNPG）生成对硝基苯酚。单位时间内对硝基苯酚在405 nm 的吸光值上升速率与钠浓度成正比例。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。

需自备仪器和用品：

可见分光光度计酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本提取：

1. 组织：按照质量 (g): 提取液体积 (mL) 为1:5~10的比例(建议称取约0.1g, 加入1mL 提取液), 冰浴匀

浆后，4℃, 10000g离心10min，取上清置冰上待测。

1. 血浆/血清等液体样本：建议用蒸馏水稀释10倍后直接检测。如稍有浑浊，4℃, 10000 g 离心 10min, 取上清后再稀释10 倍检测。

二、测定步骤

1、可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至405nm，分光光度计蒸馏水调零。

2、标准品准备：将1000μmol/mL标准品用蒸馏水稀释至30、25、20、15、10、5、2.5μmol/mL。

3、标准品稀释表

序号	稀释前浓度(μmol/mL)	标准品体积(μL)	蒸馏水体积(μL)	稀释后浓度(μmol/mL)
1	1000	100	900	100
2	100	300	700	30
3	100	250	750	25
4	100	200	800	20
5	100	150	850	15
6	20	500	500	10
7	10	500	500	5
8	5	500	500	2.5

下述实验中每个标准管需10μL 标准品(注意不要在此步骤直接检测标准品吸光度)。

4、操作表(在96孔板/1.5mL EP管中反应):

试剂名称(μL)	测定管	样本空白管	标准管	标准空白管
样本	10	_		_
标准品	_	_	10	_
蒸馏水	_	10	_	10
试剂一	150	150	150	150
37℃孵育5min				
试剂二	50	50	50	50
迅速混匀，测定10s时405nm下吸光度值，记为A1,37℃下反应5min,测定5min10s时405nm下的吸光度值，记为A2,计算：△A=(A2测定-A1测定)-(A2样本空白-A1样本空白)。			迅速混匀，37℃下反应5min,在405nm下测定吸光度值，分别记为A标准、A标准空白，计算△A标准=A标准-A标准空白。	

备注：测定管和样本空白管需要测定初始值。标准管和标准空白管只需测定1-2次且无需测定初始值。

三、钠离子含量计算

以氯化钠标准品浓度为横坐标，△A 标准为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程y=kx+b, 将△A 测定代入方程得到x(μmol/mL)。

(1) 按照样本蛋白浓度计算

钠离子含量(μmol/mg prot)= x×V 提 ÷(Cpr×V 提)×F=x÷Cpr×F

(2) 按照样本质量计算

钠离子含量(μmol/g 质量)=x×V 提÷W×F=x÷W×F

(3) 按液体体积计算

钠离子含量(μmol/mL)=x×F

V提：加入提取液体积，1mL;Cpr:样本蛋白质浓度(mg/mL),需要另外测定； W:样本质量， g;F:样 本

注意事项：

1. 实验前用1～2个样本做预实验，如果计算得出的x 值超过线性范围，建议将样本用蒸馏水适当稀释后再进行测定。如果A 测定数值过小，可增大样本量。
2. 对于动物血清/血浆样本，建议直接稀释10倍后测定。注意同步修改计算公式。

实验实　　例：

样本	稀释倍数	A1样本空白	A2样本空白	A1测定	A2测定	Na+含量	单位
胎牛血清	10	0.092	0.282	0.123	0.518	149.464	μmol/mL
大鼠血浆	10	0.092	0.282	0.111	0.516	158.393	μmol/mL

注：1. 测定的标准曲线为$y=0.0112x+0.0376, R^2=0.9939$。

2. 使用96孔板进行测定。