

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K189-M

产品规格: 96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(440 nm - 480 nm, 最佳检测波长 460 nm)

Elabscience[®] 氯 (Cl) 比色法测试盒

Chlorine (Cl) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于动物组织样本或血清血浆样本中的氯离子含量。

检测原理

生物体液中的氯离子通过离子置换出硫氰酸汞中汞离子，生成难以解离的氯化汞，而置换出的硫氰酸根离子与硝酸铁离子结合生成红色络合物，通过比色后，求出样本的氯离子含量。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	100 mmol/L 标准品 (100 mmol/L Standard Solution)	1 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	10 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	20 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 C (Chromogenic Agent C)	1 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

所需自备物品

仪器：酶标仪(440 nm-480 nm，最佳检测波长为 460 nm)

试剂：双蒸水

试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。
- ② 试剂三使用前，90-95 ℃水浴加热2-3 min。
- ③ 工作液配制：

按体积比试剂二：试剂三：试剂四= 50：100：3混匀，现用现配。

- ④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	5	10	20	30	40	50	60
100 mmol/L 标准品(μL)	0	10	20	40	60	80	100	120
双蒸水(μL)	200	190	180	160	140	120	100	80

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：可直接测定。

组织样本：匀浆介质是双蒸水，匀浆离心后取上清进行测定，留取部分上清测蛋白。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.0-60 mmol/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	2-3	人血清	5-10
10%小鼠肾脏组织	2-3	小鼠血清	5-10
10%大鼠脾组织	2-3	食蟹猴血清	5-10

注：稀释液为双蒸水。

实验关键点

① 待测样本的匀浆介质为双蒸水，避免使用生理盐水、磷酸盐缓冲溶液。

② 待测样本加入酶标板时，触底加入。

操作步骤

- ① 标准孔：取 10 μL 不同浓度标准品溶液加入酶标板相应孔中，
测定孔：取 10 μL 待测样本加入酶标板相应孔中。
- ② 向步骤①各中孔加入 250 μL 工作液。
- ③ 室温静置 5 min，于酶标仪 460 nm 波长处，测定各孔吸光度。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度标准品(μL)	10	--
待测样本(μL)	--	10
工作液(μL)	250	250
室温静置 5 min，于酶标仪 460 nm 波长处，测定各孔吸光度。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

动物组织样本中氯离子含量计算公式：

$$\begin{aligned} \text{氯离子含量} \\ (\text{mmol/gprot}) &= (\Delta A_{460} - b) \div a \div C_{\text{pr}} \times f \end{aligned}$$

生物体液样本中氯离子含量计算公式：

$$\begin{aligned} \text{氯离子含量} \\ (\text{mmol/L}) &= (\Delta_{460} - b) \div a \times f \end{aligned}$$

注解：

y: 标准测定 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{460} : 待测样本测定 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

f: 待测样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 样本加入检测体系时的蛋白浓度(gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

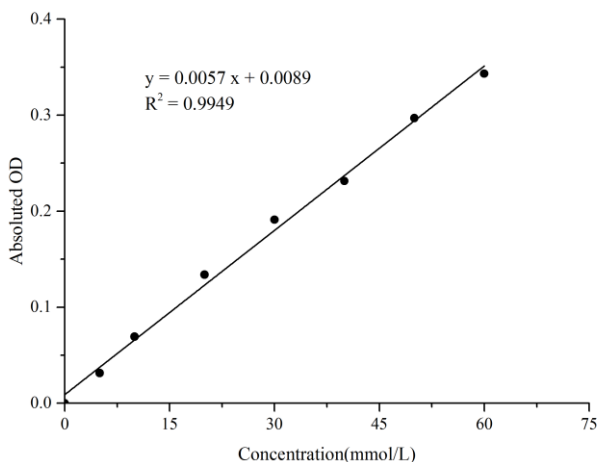
检测范围	1.0-60 mmol/L	平均批间差	6.4 %
灵敏度	1.0 mmol/L	平均批内差	3.6 %
平均回收率	105 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量10 μL, 按照操作步骤进行实验, 各点OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	5	10	20	30	40	50	60
OD 值	0.065	0.096	0.134	0.196	0.255	0.297	0.348	0.406
	0.063	0.096	0.133	0.200	0.256	0.295	0.375	0.409
平均 OD 值	0.064	0.096	0.134	0.198	0.255	0.296	0.361	0.408
绝对 OD 值	0.000	0.032	0.069	0.134	0.191	0.232	0.297	0.343

②绘制标曲(如下图):



附录2 实例分析

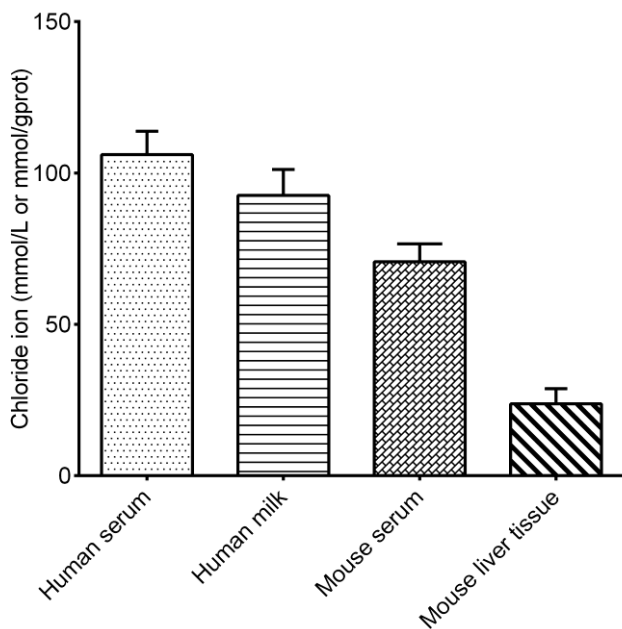
例如检测人血清(数据仅供参考):

取人血清,用双蒸水稀释5倍后,取10 μL稀释后的样本按说明书进行测定,结果如下:

标准品拟合标准曲线为: $y = 0.0057x + 0.0089$, 空白孔平均OD值为0.064, 测定孔平均OD值为0.194, 计算结果为:

$$\text{氯离子含量 (mmol/L)} = (0.194 - 0.064 - 0.0089) \div 0.0057 \times 5 = 106.23 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作,测定人血清(稀释5倍,加样量10 μL)、人乳汁(稀释5倍,加样量10 μL)、小鼠血清(稀释5倍,加样量10 μL)和小鼠肝组织(10%匀浆蛋白浓度为7.54 gprot/L,稀释2倍,加样量10 μL)中氯离子含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本 OD 值偏高	稀释液未使用双蒸水匀浆	使用双蒸水进行匀浆
样本检测值低	样本未选用合适的稀释比例	调整稀释比例重新测定
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Zeng B, Huang Y, Chen S, et al. Dextran sodium sulfate potentiates NLRP3 inflammasome activation by modulating the KCa3.1 potassium channel in a mouse model of colitis[J]. Cellular & Molecular Immunology. IF:22.096
2. Ruan F,Zeng J,Yin H, et al. RNA m6A Modification Alteration by Black Phosphorus Quantum Dots Regulates Cell Ferroptosis: Implications for Nanotoxicological Assessment[J]. Small Methods, 2021, 5(3): e2001045 IF:12.13
3. Tian H, Zhou L, Wang Y, et al. A targeted nanomodulator capable of manipulating tumor microenvironment against metastasis. J Control Release. 2022; 348:590-600. IF:11.467
4. Pan C, Yan MH, Jin HB, et al. Chronic exposure to MC-LR increases the risks of microcytic anemia: Evidence from human and mice[J]. Environmental Pollution, 2021, 288, 117966. IF:8.07
5. Gao W,Huang Z,Duan J, et al. Elesclomol induces copper-dependent ferroptosis in colorectal cancer cells via degradation of ATP7A[J]. Molecular Oncology. IF:6.603
6. Sun Z, Yue Z, Liu H, et al. Microbial-Assisted Wheat Iron Biofortification Using Endophytic Bacillus altitudinis WR10[J]. Frontiers in Nutrition, 2021:476-. IF:6.576
7. Yy A, Sw A, Kc A, et al. Upregulation of autophagy in M2 macrophage by vitamin D alleviates crystalline silica-induced pulmonary inflammatory damage[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 225. IF:5.248
8. Carafa V, Russo R, Della Torre L, et al. The Pan-Sirtuin Inhibitor MC2494 Regulates Mitochondrial Function in a Leukemia Cell Line[J]. Frontiers in Oncology, 2020, 10: 820. IF:4.848
9. Su B , Li A , Deng M R , et al. Transcriptome Analysis Reveals a Promotion of Carotenoid Production by Copper Ions in Recombinant Saccharomyces cerevisiae[J]. Microorganisms, 2021, 9(2):233. IF:4.128
10. Rana M. Adel, Rania A. Lotfy, Atef S. Darwish, et al. Destructive effect of iron overload in brain tissue of albino rats: Ameliorative role of silver immobilized organo-modified casein nanocomposite as co-treating agent with Deferasirox[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2021 Sep;67:126794. IF:3.849
11. Gao Q, Li X, Su S, et al. Deletion of the c2515 and c2516 genes affects iron uptake and virulence of APEC O1 strain E516[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2021, 8. IF:3.412

12. ul Haq M E, Akash M S H, Rehman K, et al. Chronic exposure of bisphenol A impairs carbohydrate and lipid metabolism by altering corresponding enzymatic and metabolic pathways[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020: 103387. IF:3.292
 13. Surendran V, Chiulli T, Manoharan S, et al. Acoustofluidic Micromixing Enabled Hybrid Integrated Colorimetric Sensing, for Rapid Point-of-Care Measurement of Salivary Potassium[J]. *Biosensors*, 2019, 9(2): 73. IF:3.24
 14. Elblehi SS, El-Sayed YS, Soliman MM, Shukry M. Date Palm Pollen Extract Avert Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy Fibrosis and Associated Oxidative/Nitrosative Stress, Inflammatory Cascade, and Apoptosis-Targeting Bax/Bcl-2 and Caspase-3 Signaling Pathways[J]. *Animals (Basel)*. 2021 Mar 20;11(3):886. doi: 10.3390/ani11030886. IF:2.752
 15. Mohammed M E, Abbas A M, Badi R M, et al. Effect of Acacia senegal on TGF- β 1 and vascular mediators in a rat model of diabetic nephropathy[J]. *Archives of physiology and biochemistry*, 2020: 1-11. IF:2.575
- Soo T, See S, Bhassu S. Potential muscle activity disturbance in *Penaeus monodon* during Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) infection: Inference through gene expression, calcium concentration, and MicroRNA - ScienceDirect[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2020, 177. IF:2.074

