

核酸检测试剂盒(定磷比色法)

产品简介:

核酸(nucleic acid)是由许多核苷酸聚合成的生物大分子化合物,是生命的基本物质之一,广泛存在于所有动植物细胞、微生物体内,根据化学组成不同,核酸可分为脱氧核糖核酸(简称 DNA)和核糖核酸(简称 RNA),核酸分子中含有一定比例的磷,DNA 中磷含量为 9.2%,RNA 中磷含量为 9.0%

Yuanye 核酸检测试剂盒(定磷比色法)检测原理是在强酸条件下,核酸分子中的有机磷转化为无机磷,后者与钼酸铵形成黄色的磷钼酸铵,随后还原剂把高价钼离子还原成低价钼离子,进而形成蓝色的钼蓝,在一定浓度范围蓝色深浅与磷含量成正比,通过分光光度计在 660nm 处检测吸光度,通过检查标准曲线,获得磷含量,如果待测样品中有无机磷,应予以扣除,否则结果偏高。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号		R22076 50T	Storage
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)		1ml	4°C
试剂(B): 玻璃珠		50 粒	RT
试剂(C): H ₂ O ₂		2×1ml	4°C 避光
试剂(D): 定磷试剂	D1: 定磷试剂 A	50ml	RT
	D2: 定磷试剂 B	1g	RT
	D3: 定磷试剂 C	3g	4°C 避光
使用说明书		1 份	

自备材料:

- 1、蒸馏水、浓硫酸
- 2、离心管或试管、容量瓶、凯氏烧瓶、水浴锅、比色杯、分光光度计

操作步骤(仅供参考):

- 1、制备待测样液:取样品(如核酸粗提物)0.05g,加入少量蒸馏水溶解(如果难以溶解,可滴加样品处理液至溶液 pH=7.0),准确定容至 25ml(此溶液样品含量 2mg/ml),即为待测样液。
- 2、配制定磷试剂:称取 0.5g 定磷试剂 B 加入 20ml 蒸馏水,充分溶解,即为定磷试剂 B 溶液。称取 1g 定磷试剂 C 加入 10ml 蒸馏水,充分溶解,即为定磷试剂 C 溶液。按 D1: D2(定磷试剂 B 溶液): D3(定磷试剂 C 溶液)=3: 1: 1 混匀,即为定磷试剂,即配即用。

【注】定磷试剂 B 溶液易出现乳白色样物质，应弃用，尽量现用现配。定磷试剂 C 溶液 4℃避光可以保存 1~2 月，呈深黄色至棕色即失效。定磷试剂混合液配置后当天使用，正常颜色为黄色或黄绿色，如呈棕黄色或深绿色则失效。该试剂盒提供的定磷试剂 B 和定磷试剂 C 为过量。

- 3、稀释标准品：取适量的磷标准(1mg/ml)，按磷标准(1mg/ml)：蒸馏水=1：49 的比例稀释标准品至 20μg/ml。取干净离心管或试管，按下表进行标准品浓度的依次稀释，获得不同浓度的多个磷标准。

	0	1	2	3	4	5	6	7	8
磷标准(20μg/ml)/ml	0	0.025	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35
蒸馏水/ml	1.5	1.475	1.45	1.4	1.35	1.3	1.25	1.2	1.15
磷含量/μg	0	0.5	1	2	3	4	5	6	7

- 4、制备总磷测定液：取上述待测样液(2mg/ml)1ml，置于 50ml 凯氏烧瓶，加入 1ml 浓硫酸和 1 粒玻璃珠，凯氏烧瓶内插入一个小漏斗，放在通风橱内加热至溶液呈黄色时取出，稍冷却后加入 2~3 滴 H₂O₂，继续消化至透明，表示消化完成，冷却，转移消化液至 100ml 容量瓶中，用少量蒸馏水洗涤凯氏烧瓶 2 次，洗涤液一并倒入容量瓶，加蒸馏水定容至 100ml，混匀后待用，即为总磷测定液。
- 5、无机磷测定液(选做)：取上述待测样液(2mg/ml)1ml，置于 100ml 容量瓶中，加蒸馏水定容至 100ml，混匀后待用，即为无机磷测定液。
- 6、磷加样：按下表进行操作，依次加入下列溶液，如果样品中有无机磷，应同时检测无机磷，并将无机磷扣除。

加入物(ml)	标准管	无机磷测定管(选做)	总磷测定管
系列浓度磷标准(0~8 号)	1.5	—	—
无机磷测定液	—	1.5	—
总磷测定液	—	—	1.5
定磷试剂	1.5	1.5	1.5

- 6、磷测定：45℃孵育 10min，冷却后以分光光度计测定 660nm 处标准管、无机磷测定管、总磷测定管的吸光度(分别记为 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{无机磷}}$ 、 $A_{\text{总磷}}$)。

计算：以磷含量(μg)(0~8 号)为横坐标，吸光度为纵坐标作图，得标准曲线。以 $A_{\text{有机磷}} = A_{\text{总磷}} - A_{\text{无机磷}}$ 之差值，在标准曲线查的有机磷的质量(μg)，再根据测定时取样 ml 数，求得有机磷的质量浓度(μg/ml)。按下列公式计算样品中核酸的质量分数：

$$\text{核酸质量分数(\%)} = CV \times 11 / m \times 100\%$$

式中：C=有机磷的质量浓度(μg/ml)

V=样品的总体积(ml)

11=1μg 磷相当于 11μg 核酸

m=样品质量(μg)

注意事项:

- 1、待测样品如不能及时测定，应置于 2~8℃保存，3 天内稳定。
- 2、如果样品浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。
- 3、消化时间应视样品不同而不同，如果是 RNA 样品，一般在 800W 电炉上消化 45min。
- 4、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6 个月有效；常温运输，按要求保存。