

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%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 | ADS128TC0 | Storage |
|---|------------|----|-----------|---------|
| | | | 50T | |
| 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 | RT |
| 试剂(D): 定磷试剂 | D1: 定磷试剂 A | | 50ml | RT |
| | D2: 定磷试剂 B | | 20ml | RT |
| | D3: 定磷试剂 C | | 20ml | 4°C 避光 |
| 临用前, 按 D1: D2: D3=3: 1: 1 混合, 配制定磷试剂, 即配即用。 | | | | |
| 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、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(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)/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 |

- 3、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 H_2O_2 ，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。
- 4、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。
- 5、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 $^{\circ}\text{C}$ 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($\mu\text{g}/\text{ml}$)。按下列公式计算样品中核酸的质量分数：

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

式中：C=有机磷的质量浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$)

V=样品的总体积(ml)

11=1 μg 磷相当于 11 μg 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 $^{\circ}\text{C}$ 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；常温运输，按要求保存。

