

核酸检测试剂盒(定磷比色法)

货号: BC8370

规格: 50T

保存: 2-8℃保存, 有效期 6 个月。

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		BC8370-50T	储存
试剂(A):磷标准(1mg/ml)		1ml	2-8℃
试剂(B):玻璃珠		50 粒	RT
试剂(C):H ₂ O ₂		2×1ml	2-8℃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	2-8℃避光

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 2-8℃避光可以保存 1-2 个月，呈深黄色至棕色即为失效。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即为失效。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

7. 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 标准、A 无机磷、A 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. 产品信息仅供参考，如有疑问请致电 400-968-6088 咨询。
6. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。
7. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。



