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:

编号 / 名称		GCTC1351 50T	Storage
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)		1ml	4℃
试剂(B): 玻璃珠		50 粒	RT
试剂(C): H_2O_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℃ 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(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

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℃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 $A_{有机磷}=A_{总磷}-A_{无机磷}$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：

核酸质量分数(%)=CV×11/m×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。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液（醇溶）
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCNR0003	Lezol(总 RNA 抽提试剂)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)

