5´-核苷酸检测试剂盒(过碘酸氧化法)

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%。

5´-核苷酸检测试剂盒(过碘酸氧化法)检测原理是 5´-核苷酸核糖基的 2´、3´碳原子都有羟基，这两个碳原子之间的键较弱，过碘酸可氧化使其断裂生成二醛化合物，后者与甲胺基生成化合物，该化合物在酸性条件下脱下磷酸基，测定该无机磷量，即得 5´-核苷酸，无机磷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，在 660nm 处检测吸光度，通过检查标准曲线获得磷含量，同时为了消除其他无机磷的干扰，测定未经过碘酸氧化的无机磷，予以扣除，即为准确的 5´-核苷酸磷。该试剂盒的特点是专一测定 5´-核苷酸。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		GCTC1355 50T	Storage
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)		1ml	4℃
试剂(B: 过碘酸试剂		3ml	4℃ 避光
试剂(C): NA Assay Buffer		15ml	RT
试剂(D): NA 显色液		15ml	RT 避光
试剂(E): 定磷试剂	E1：定磷试剂 A	50ml	RT
	E2：定磷试剂 B	20ml	RT
	E3：定磷试剂 C	3g	RT
使用说明书		1 份	

自备材料:

1、蒸馏水、粗制 AMP 或其他核酸

2、水浴锅、离心管或试管、分光光度计、比色杯

操作步骤(仅供参考):

1、稀释标准品：取适量的磷标准(1mg/ml)，按磷标准(1mg/ml)：蒸馏水=1：99 的比例稀释标准品至 10μg/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。

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
磷标准(10μg/ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
蒸馏水	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
磷含量(μg/ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

2、 制备待测样液：取用粗 AMP 水解液或 RNA 水解液，作为待测样液。

3、 配制定磷试剂：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 E1：E2：E3(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 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。

4、 磷加样：按下表进行操作，依次加入下列溶液，不能颠倒，每加一种试剂，必须充分混匀。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)	空白管	标准管	氧化管	未氧化管
蒸馏水	1	—	0.5	0.5
系列磷标准(1~10 号)	—	1	—	—
待测样液	—	—	0.5	—
过碘酸试剂	0.05	0.05	0.05	0.05
NA Assay Buffer	0.2	0.2	0.2	0.2
混匀，45℃孵育 10min。				
待测样液	—	—	—	0.5
NA 显色液	0.25	0.25	0.25	0.25
混匀，45℃孵育 10min。				
定磷试剂	1.5	1.5	1.5	1.5
混匀，45℃孵育 10min。				

5、磷测定：空白管调零，比色杯光径 1cm，分光光度计测定 660nm 处标准管、氧化管、未氧化管的吸光度(分别记为 $A_{标准}$、$A_{氧化}$、$A_{未氧化}$)。

计算：以系列磷含量(μg/ml)(1~10 号)为横坐标，吸光度为纵坐标作图，得标准曲线。氧化管为样液中所有磷的含量，未氧化管为样液未氧化前无机磷的含量，二者差值即为样液中 5′-核苷酸磷含量。按下列公式计算样液中 5′-核苷酸的含量：

5′-核苷酸含量(mg/ml)=(C*M/31)×(N/1000)

式中：C=5′-核苷酸磷的质量浓度(μg/ml)

M=所测核苷酸相对分子量，如样液是 RNA 水解液，则四种核苷酸的平均相

对分子量为 340。

31=磷的相对原子质量

N=样液稀释倍数

1000=由μg 换算为 mg 的倍数

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、 定磷试剂 A 有腐蚀性，应小心操作。
4、 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。
5、 定磷试剂配制后当天使用，正常颜色为黄色或黄绿色，如呈棕黄色或深绿色则失效。
6、 在加样时，加入试剂的顺序应严格按照表格操作，不能颠倒，且加完后应充分摇匀并准确计时。
7、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
8、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

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
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCPW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
GCTC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

