

## 核酸检测试剂盒(定磷比色法)

产品货号: BA1826

产品规格: 50T

### 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%

尚宝生物 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。本试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

产品名称		50T	保存条件
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)		1ml	2-8℃
试剂(B): 玻璃珠		50 粒	室温, 避光
试剂(C): H2O2		40mg	室温
试剂(D): 定磷试剂	E1: 定磷试剂 A	50ml	室温
	E2: 定磷试剂 B	20ml	室温
	E3: 定磷试剂 C	20ml	2-8, 避光
临用前, 按 E1: E2: E3=3: 1: 1 混合, 配制定磷试剂, 即配即用。			

### 自备材料:

1. 蒸馏水、浓硫酸
2. 离心管或试管
3. 容量瓶
4. 凯氏烧瓶
5. 水浴锅
6. 722 型分光光度计

### 操作步骤(仅供参考):

1. 稀释标准品: 取磷标准(1mg/ml), 按磷标准(1mg/ml): 蒸馏水=1: 49 的比例稀释标准品至 20 $\mu$ g/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 $\mu$ g/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/ $\mu$ g	0	0.5	1	2	3	4	5	6	7

2. 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

3. 制备总磷测定液：取上述待测样液(2mg/ml)1.0ml，置于 50ml 凯氏烧瓶，加入 1.0ml 浓硫酸和一粒玻璃珠，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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，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)1.0ml，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. 磷测定：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	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. 45℃ 孵育 10min，冷却后测定 660nm 处吸光度(即为 A<sub>660</sub>)，分别为 A<sub>无机磷</sub>、A<sub>总磷</sub>。

#### 计算：

以磷含量(μg)为横坐标，吸光度为纵坐标作图，得标准曲线。

$$A_{\text{有机磷}} = A_{\text{总磷}} - A_{\text{无机磷}}$$

由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. 上述低温试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降。
2. 待测样本如不能及时测定，应置于 2~8℃ 保存，3 天内稳定。
3. 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。
4. 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。

**有效期：**6 个月有效。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com