



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

核酸检测试剂盒(定磷比色法)

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%

源叶生物 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。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称 \ 编号		R22076 50T	Storage
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)		1ml	4℃
试剂(B): 玻璃珠		50 粒	RT 避光
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℃ 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
- 3、容量瓶
- 4、凯氏烧瓶
- 5、水浴锅
- 6、比色杯、分光光度计

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: 49 的比例稀释标准品至 20 μ 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 μ 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/ μ 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。

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 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。

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,



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{无机磷}}$ 、 $A_{\text{总磷}}$)。

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($\mu\text{g/ml}$)。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($\mu\text{g/ml}$)

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℃ 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。

有效期：6 个月有效；常温运输，4℃ 保存。