

## 核酸检测试剂盒（定磷比色法）

产品货号：BA1626

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%

乐业生物 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：

试剂名称		50T	保存条件
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)		1ml	4℃
试剂(B): 玻璃珠		50粒	室温
试剂(C): H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		2×1ml	室温
试剂(D): 定磷试剂	D1: 定磷试剂 A	50ml	室温
	D2: 定磷试剂 B	20ml	室温
	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。			

### 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

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)1.0ml，置于50ml凯氏烧瓶，加入1.0ml浓硫酸和一粒玻璃珠，凯



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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。

- 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。
- 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

- 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：

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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com