

## 5'-核苷酸检测试剂盒(过碘酸氧化比色法)

产品货号: BA1825

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%。

5'-核苷酸检测试剂盒(过碘酸氧化比色法)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:

产品名称		50T	保存条件
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)		1ml	2-8℃
试剂(B): 过碘酸试剂		3ml	2-8℃, 避光
试剂(C): NA Assay Buffer		15ml	室温
试剂(D): NA 显色液		15ml	室温, 避光
试剂(E): 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	3g	室温

### 自备材料:

1. 蒸馏水、粗制 MP 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 10 $\mu$ 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。

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
磷标准(10 $\mu$ g/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( $\mu$ g/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。



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

【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：

$$5\text{'-核苷酸含量}(\text{mg/ml})=(C*M/31)\times(N/1000)$$

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：

- 待测样品如不能及时测定，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。
- 定磷试剂 A 有腐蚀性，应小心操作。
- 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。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**保存条件：**6 个月有效；常温运输，4℃保存。



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