

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 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。

| 加入物(ml) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 磷标准(10 μ 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(μ 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

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

【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($\mu\text{g/ml}$)(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($\mu\text{g/ml}$)

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

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