

5'-核苷酸检测试剂盒(过碘酸氧化法)

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%。

Leagene 5'-核苷酸检测试剂盒(过碘酸氧化法)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:

名称		编号	TC1355	Storage
			50T	
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)			1ml	4°C
试剂(B): 过碘酸试剂			3ml	4°C 避光
试剂(C): NA Assay Buffer			15ml	RT
试剂(D): NA 显色液			15ml	RT 避光
试剂(E): 定磷试剂	E1: 定磷试剂 A		50ml	RT
	E2: 定磷试剂 B		20ml	RT
	E3: 定磷试剂 C		3g	RT
使用说明书			1 份	

自备材料:

- 1、蒸馏水、粗制 AMP 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。

【注】定磷试剂 C 溶液 4 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 孵育 10min。				
待测样液	—	—	—	0.5
NA 显色液	0.25	0.25	0.25	0.25
混匀，45 $^{\circ}$ C 孵育 10min。				
定磷试剂	1.5	1.5	1.5	1.5
混匀，45 $^{\circ}$ C 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(μ 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：

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

式中：C=5'-核苷酸磷的质量浓度(μ 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:

- 1、待测样品如不能及时测定, 应置于 2~8°C 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、定磷试剂 A 有腐蚀性, 应小心操作。
- 4、定磷试剂 C 溶液 4°C 避光可以保存 1~2 月, 呈深黄色至棕色即失效。
- 5、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。
- 6、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。
- 7、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

有效期: 6 个月有效; 常温运输, 按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
DC0032	Masson 三色染色液
DP0013	GUS 染色液(即用型)
DZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
NR0001	DEPC 处理水(0.1%)
PW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
TC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)