

Lowry 法蛋白浓度测定试剂盒说明书

货号: AC13861

规格: 1000T(微孔)

保存: BSA 蛋白标准品 4℃保存有效期至少 3 个月, -20℃保存有效期至少一年, 其他试剂室温保存有效期至少一年。试剂开封使用后请及时密闭保存, Folin 酚乙试剂颜色变成深绿色即失效。

产品组成:

Folin 酚甲试剂 A	100ml×2
Folin 酚甲试剂 B	5ml
Folin 酚乙试剂(1N)	20ml
PBS 稀释液	30ml
BSA 蛋白标准品 (5mg/ml)	1ml

产品说明:

Folin-酚试剂法包括两步反应: 第一步是在碱性条件下, 蛋白质与铜作用生成蛋白质-铜络合物; 第二步是此络合物将 Folin 试剂还原, 产生深蓝色, 颜色深浅与蛋白质含量成正比。定量范围为 5~500 μ g/ml 蛋白质。Folin 试剂显色反应由酪氨酸、色氨酸和半胱氨酸引起, 因此样品中若含有酚类、柠檬酸和巯基化合物均有干扰作用。此外, 不同蛋白质因酪氨酸、色氨酸含量不同而使显色强度稍有不同。

操作说明:

- 1.根据需量, 取适量 Folin 酚甲试剂 A 和 B 按 50:1 混合, 混合后有效期为 24 小时, 过期失效。
- 2.根据需量, 取适量 BSA 标准品用 PBS 稀释稀释 10 倍至浓度 0.5mg/ml。

若采用酶标仪法(96 孔)

- 3.将标准品按 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 μ l 加到 96 孔板中, 加 PBS 补足到 20 μ l。
- 4.将样品作适当稀释(最好多做几个梯度), 加 20 μ l 到 96 孔板的样品孔中。由于移液器在取小量时的误差, 标准线前面的点误差比较大, 所以尽可能的让样品点落在标准线 1/2 后。
- 5.将配好的 Folin 酚甲试剂每孔加入 200 μ l, 轻轻震动, 混匀, 室温放置 10 分钟。
- 6.各孔加入 20 微升 Folin 酚乙试剂, 迅速混匀, 37℃放置 30 分钟。用酶标仪测定 A650 计算蛋白浓度。

若采用分光光度计法 (接上述步骤 2)

- 3.取八支 (或者更多) 5ml 离心管, 标号, 按下表加入试剂。
- 4.混匀, 37℃放置 30 分钟。分光光度计测定 A650 计算蛋白浓度。

离心管号	1	2	3	4	5	6	7(样品管 1)	8 (样品管 2)	9 (样品管 3)
标准蛋白 BSA	0	40ul	80ul	120ul	160ul	200ul	200ul 适当稀释的样品 1	200ul 适当稀释的样品 2
PBS	200ul	160ul	120ul	80ul	40ul	0	0	0	0
Folin 酚甲试剂	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml
混匀，室温放置 10 分钟									
Folin 酚乙试剂	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul