

Lowry 法蛋白浓度测定试剂盒 使用说明书

产品编号: SK1080

储存条件: BSA 蛋白标准液-20 °C保存, 其它室温保存, 保质期 12 个月。

产品内容:

组分货号	产品组成	SK1080-1000T
SK1080-1	Folin 酚甲试剂 A	100 mL×2
SK1080-2	Folin 酚甲试剂 B	5 mL
SK1080-3	Folin 酚乙试剂 (1 N)	20 mL
SK1080-4	PBS 稀释液	30 mL
SL1060	BSA 蛋白标准液 (5 mg/mL, 单独包装)	1 mL
-	说明书	1 份

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; 第二步用此络合物还原 Folin 试剂, 样品溶液变为深蓝色, 颜色深浅与蛋白质含量成正比。蛋白质定量范围为 5-100 $\mu\text{g/mL}$ 。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。

使用说明:

制备工作液

1. 根据用量, 取适量 Folin 酚甲试剂 A 和 Folin 酚甲试剂 B 按 50:1 混合, 即为 Folin 酚甲试剂, 有效期 24 小时。
2. 根据用量, 取适量 BSA 标准液, 用 PBS 稀释液稀释 10 倍至浓度 0.5 mg/mL, 即为 BSA 蛋白标样。

试管法 (分光光度计法)

1. BSA 蛋白标样及蛋白样品按下表顺序加入反应试剂, 蛋白样品需适当稀释。最终所有样品量均为 200 μL , 每个样品加入 Folin 酚甲试剂 2 mL 混匀, 室温静置 10 min, 再加入 Folin 酚乙试剂 200 μL 混匀。

加样顺序	标样编号						样品编号	
标记试管号	1	2	3	4	5	6	7	8
BSA 蛋白标样	0	40 μL	80 μL	120 μL	160 μL	200 μL	200 μL	...
PBS 稀释液	200 μL	160 μL	120 μL	80 μL	40 μL	0	稀释样品	
Folin 酚甲试剂	2 mL							
混匀, 室温放置 10 min								
Folin 酚乙试剂	200 μL							

2. 室温放置 30 min。A650 分光光度计分别测定光度值, 绘制标准曲线并计算样品蛋白浓度。

96 孔板法 (酶标仪法)

1. 将 BSA 蛋白标准样按 0、2、4、6、8、12、16、20 μL 加到 96 孔板中, 加 PBS 稀释液补足到 20 μL 。
2. 将蛋白样品作适当稀释 (建议多做几个梯度), 加 20 μL 到 96 孔板中。
3. 将配好的 Folin 酚甲试剂每孔加入 200 μL , 轻轻震动混匀, 室温放置 10 min。
4. 每孔加入 Folin 酚乙试剂 20 μL , 迅速混匀, 室温放置 30 min。用酶标仪测定 A650 光度值, 绘制标准曲线并计算蛋白浓度。

注意事项:

1. Folin 酚乙试剂只在酸性条件稳定, 故当其加到碱性的铜-蛋白质溶液中时, 必须立即混匀, 以便在磷钼酸-磷钨酸试剂被破坏前, 还原反应即能发生。
2. 为了保证反应进行完全, 反应可在 25-30 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中进行, 反应 30 min 后准时比色。
3. 还原物质会干扰本实验。
4. Lowry 法的呈色物质组成尚未确定, 它在红外区呈现较宽吸收峰。在 550-750 nm 间吸光度均与蛋白质浓度成正比。