

Lowry 法蛋白定量试剂盒说明书

Lowry method of Protein Assay Kit

货号: C5076

规格: 1000T(微量法)/100T(分光光度法)

产品信息:

组分	产品规格	储存
Folin 酚甲试剂 A	2*100ml	4°C
Folin 酚甲试剂 B	5ml	4°C
Folin 酚乙试剂 (1N)	20ml	4°C
检测缓冲液	30ml	4°C
标准品 (5mg/ml)	1ml	-20°C

产品简介:

斐林-酚法用于蛋白质的定量测定, 包括两步反应: 第一步, 蛋白质在碱性溶液中与铜离子作用形成铜-蛋白复合物; 第二步, 铜-蛋白复合物加入酚试剂后, 产生蓝色化合物, 该蓝色化合物在波长 650nm 处的吸光度与蛋白质的含量成正比, 根据检测样品的吸光度, 计算样品的蛋白质含量。

Folin 试剂显色反应是由酪氨酸、色氨酸和半胱氨酸引起, 因此样品中的酚类、柠檬酸和巯基化合物均会有干扰作用; 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。

本蛋白定量试剂盒的检测范围为 50ug/ml 至 500ug/ml。

使用说明:

1. 依据实验用量, 将 Folin 酚甲试剂 A 和 B 按体积比 50:1 混合, 现配现用
2. 取适量 BSA 标准品用 PBS 稀释 10 倍至浓度 0.5mg/ml
>微量法:
 3. 将标准品按 0、2、4、6、8、12、16、20ul 加到 96 孔板中, 并加检测缓冲液补足到 20ul; 为减小实验误差, 可按上述比例预先配制不同浓度的标准品, 然后每孔加入 20ul
 4. 将样品作适当稀释, 也按每孔 20ul 加入 96 孔板中
 5. 将配好的 Folin 酚甲试剂每孔加入 200ul, 轻轻震动, 混匀, 室温放置 10min
 6. 各孔加入 20ul Folin 酚乙试剂, 迅速混匀, 37°C 孵育 30min。用酶标仪测定 A650, 计算蛋白浓度

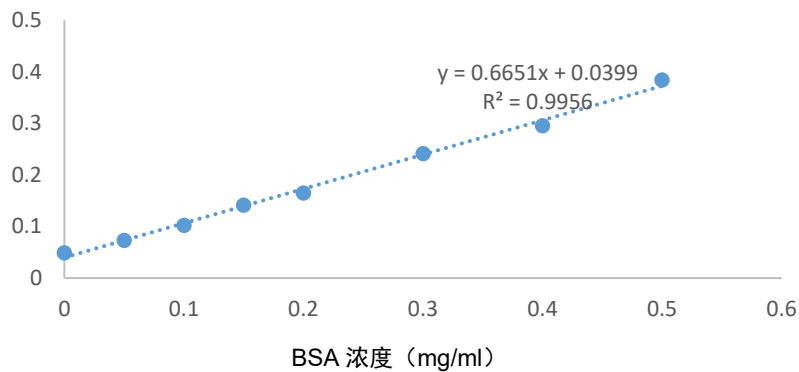
>分光光度法：（上接步骤 2）

3. 取 8 支或更多 5ml 离心管，并进行编号，然后按下表加入试剂

离心管号	1 (空白对照)	2	3	4	5	6	7	8	9
标准蛋白 (BSA)	0	40ul	80ul	120ul	160ul	200ul	200ul 适当稀释的样品	200ul 适当稀释的样品
PBS	200ul	160ul	120ul	80ul	40ul	0	0	0	0
斐林-酚甲试剂	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml
混匀，室温静置 10min									
斐林-酚乙试剂	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul
混匀，37°C放置 30min									

4. 用分光光度计测 650nm 波长处的吸光度值，记录结果，并使用 Excel 制作标准曲线，根据公式推测所测样品的浓度。

参考标准曲线：



注意事项：

- 1.待测样品蛋白提取可用生理盐水、双蒸水或不含蛋白的 PBS 提取
2. Folin 酚乙试剂若颜色变成深绿色即失效
- 3.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作