

福林酚蛋白浓度测定试剂盒

产品货号: 26474

产品规格: 1000 assays (酶标板法); 100 assays (分光光度法)

产品简介:

在碱性条件下, 蛋白质与铜作用生成蛋白质-铜络合物。此络合物将磷钼酸-磷钨酸试剂 (Folin-酚试剂) 还原, 产生深蓝色复合物 (磷钼蓝和磷钨蓝混合物), 这种深蓝色的复合物在745~750nm处有最大吸收峰, 颜色深浅与蛋白质含量成正比。此法操作简便, 灵敏度比双缩脲法高100倍, 定量范围为5~100 μ g/mL蛋白质。用酶标板法可使用1000 assays或分光光度法100 assays。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件
溶液 A	2mL	2-8 $^{\circ}$ C
溶液 B	100mL	2-8 $^{\circ}$ C
Folin-酚试剂 1N	10mL	2-8 $^{\circ}$ C, 避光

操作步骤(仅供参考):

A. 试剂准备

1. 在分析天平上精确称取0.01g结晶牛血清白蛋白, 用蒸馏水溶解并定容至100mL, 配制成100 μ g/mL的蛋白标准溶液。
2. 样品用蒸馏水做适当稀释, 预做2个稀释度。
3. 根据标准品和样品计算所需的工作液, 按溶液A:溶液 B=1:50配制, 充分混匀。

加入物质	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
蒸馏水 (μ L)	200	180	160	140	120	100	80	60	40	20	0
BSA标准蛋白100 μ g/mL (μ L)	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
BSA浓度 (μ g/mL)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100

B. 分光光度计法

1. 准备22个微量离心管, 设置重复管号0~11, 按上表配制BSA浓度梯度的标准溶液。
2. 另外准备4个微量离心管, 设置2个重复组, 编号不同的2管分别加入200 μ L不同稀释度的蛋白样品。
3. 各离心管加入1mL反应工作液, 混匀室温下静置10min。
4. 再向各离心管中加入100 μ L的Folin-酚试剂, 迅速混匀, 室温下静置30min。
5. 分光光度计上测各离心管中的A₇₅₀值。以标准品不同梯度的BSA测定的A₇₅₀值为纵坐标, 对应的蛋白浓度为横坐标, 在坐标纸上或使用Microsoft Excel软件绘制标准曲线。
6. 选择合适的稀释度, 根据标准曲线和稀释度计算原样品的蛋白质浓度。

C. 酶标法

1. 按照表格比例配制BSA浓度梯度的标准溶液, 体积为20 μ L, 分别加入到22个酶标孔中, 各设置1个重复孔。
2. 另外准备4个酶标孔, 设置2个重复组, 编号不同的2孔分别加入20 μ L不同稀释度的蛋白样品。
3. 各酶标孔加入100 μ L反应工作液, 混匀室温下静置10min。
4. 再向各酶标孔中加入10 μ L的Folin-酚试剂, 迅速混匀, 室温下静置30min。
5. 转置酶标仪上测各孔中的A₇₅₀值。以标准品不同梯度的BSA测定的A₇₅₀值为纵坐标, 对应的蛋白浓度为横坐标, 在坐标纸上或使用Microsoft Excel软件绘制标准曲线。



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

6. 选择合适的稀释度，根据标准曲线和稀释度计算原样品的蛋白质浓度。

注意事项:

1. 溶液A和B混合后当天使用，不能够长期保存，应该及时废弃。
2. 产品中的保存条件及有效期均以未开封情况下计算，为了防止产品与空气接触发生化学反应影响产品性能，将未使用完毕的组分按存储要求保存同时建议开封后的组分尽快使用完毕。
3. 样品稀释的倍数应使蛋白质含量在标准曲线范围之内，若超过此范围则需将样品酌情稀释。
4. 加Folin-酚试剂后必须立即混匀，以便在磷钼酸-磷钨酸试剂（Folin-酚试剂）被破坏之前即能发生还原反应，否则会使显色程度减弱。
5. 若Folin-酚试剂使用过久，颜色由黄变绿，可加几滴液溴，煮沸几分钟，恢复原色仍可继续使用。
6. 酚和柠檬酸对测定有干扰，低浓度尿素，胍，硫酸钠，硝酸钠，三氯乙烯，乙醇，乙醚，丙酮对显色无影响。
7. Folin-酚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。如果样品中蛋白质与BSA中的酪氨酸、色氨酸含量差异较大，请采用我公司生产的Bradford法蛋白定量试剂盒或BCA法蛋白定量试剂盒。
8. 加Folin-酚试剂后在60min内测定，否则颜色信号会逐渐减弱，影响结果的准确性。
9. 使用后请旋紧瓶盖，防止溶液挥发与空气中的物质发生化学反应。
10. 本试剂盒只能用于体外实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等，由此产生的后果概不承担责任。

运输和保存条件:

常温下运输，收到后将溶液A和溶液B于4℃保存，Folin-酚试剂4℃避光保存，保质期两年。



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>