改良 Lowry 法蛋白定量试剂盒

产品简介:

目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法是：BCA 蛋白定量试剂盒(BCA Protein Assay Kit)和 Bradford 蛋白定量试剂盒(Bradford Protein Assay Kit)。

改良 Lowry 法蛋白定量试剂盒是利用蛋白中肽键与铜离子结合成四配位基铜离子复合物，后者与 Folin 试剂(福林酚)反应，产生蓝色比色物，用分光光度法(酶标仪或分光光度计)检测 750nm 处吸光度，并与标准曲线比较，求得待测蛋白样品的浓度，在 1～1500μg/ml 浓度范围内有较好的线性关系。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:

编号 / 名称		GCPT0008 500T	GCPT0008 1000T	Storage
试剂(A): Folin-Ciocalteu Reagent		5ml	10ml	RT 避光
试剂(B): 改良 Lowry Reagent	B1: Lowry A	100ml	2×100ml	RT
	B2: Lowry B	2ml	4ml	RT
	B3: Lowry C	2ml	4ml	RT
临用前，按 Lowry A:B:C=50:1:1 比例配制改良 Lowry Reagent，即配即用。				
试剂(C): 蛋白标准(BSA)		20mg	20mg	RT
试剂(D): 蛋白标准配制液		1.5ml	1.5ml	RT
试剂(E): ddH_2O		5ml	10ml	RT
使用说明书		1 份		

自备材料:

1、酶标仪或分光光度计、96 孔板或离心管

操作步骤(仅供参考):

1、取 1ml 蛋白标准配制液加入到蛋白标准(BSA)(20mg)中，充分溶解后配制成 20mg/ml 的蛋白标准溶液，配制后可立即使用，溶解后的蛋白标准溶液应-20℃保存。

2、取适量 20mg/ml 蛋白标准，稀释至终浓度为 1500μg/ml 或所需浓度。如取 75μl 20mg/ml 蛋白标准，加入 925μl 稀释液，充分混匀，即配制 1500μg/ml 蛋白标准。特别提示：待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准也宜溶解于什么样的稀释液中。例如待测蛋白溶解于蔗糖中，亦取 20mg/ml 蛋白标准溶解于蔗糖中；一般也可以用

0.9%NaCl 或 PBS 作为溶解 BSA 稀释液；稀释后的 1500μg/ml 蛋白标准也应-20℃长期保存。

3、根据样品数量，按 Folin-Ciocalteu Reagent:ddH_2O =1:1 的比例配制 Folin-Ciocalteu 工作液，充分混匀。

4、根据样品数量，按试剂(B1):试剂(B2):试剂(B3)=50:1:1 的比例配制改良 Lowry Reagent 工作液，充分混匀。例如取 10ml Lowry A、0.2ml Lowry B、0.2ml Lowry C，配制成 10.4ml 改良 Lowry Reagent 工作液。

5、将 1500μg/ml 蛋白标准用稀释待测样品的溶液 5 倍梯度稀释，浓度分别为 300μg/ml、60μg/ml、12μg/ml、2.4μg/ml、0μg/ml，各取 40μl 加到 96 孔板的标准品孔。

6、加 40μl 待测蛋白样品或稀释液(空白对照)到 96 孔板的样品孔中，如果标准品稀释液与溶解待测蛋白样本的溶液不同，应在待测蛋白样本孔中加入 40μl 稀释液；如果标准品稀释液与溶解待测蛋白样本的溶液相同，无需在待测蛋白样本孔中加入 40μl 稀释液。

7、用多通道微量移液器快速将 200μl 配置好的改良 Lowry Reagent 工作液加入至各孔，立即在 96 孔板混匀器上混匀 30s 或手动轻轻混匀 30s，室温准确孵育 10min。

8、用多通道微量移液器快速将 20μl 新鲜配置的 Folin-Ciocalteu 工作液加至上述各孔中，立即在 96 孔板混匀器上混匀 30s 或手动轻轻混匀 30s，加盖以防止液体挥发，室温准确孵育 30min

9、轻轻混匀 96 孔板，酶标仪或微量滴定板读数仪测定 750nm 处吸光度，也可用分光光度计测定，但应考虑根据比色皿的最小检测体积，检测样品数量亦相应减少；对比标准曲线，求得相应待测样品的蛋白浓度。同时建议所以样品(包括标准品)采用三复孔，求平均值。

注意事项：

1、蛋白标准(BSA)粉末溶解于蛋白标准配制液后，即获得蛋白标准原液，该原液中含有防腐剂，不影响后续检测，该蛋白标准原液-20℃长期保存。

2、待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准也宜溶解于什么样的稀释液中，否者待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致，有可能导致测定不准确。

3、如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但应考虑根据比色皿的最小检测体积。应按比例适当加大改良 Lowry Reagent 工作液的用量使总体积不小于最小检测体积，样品和标准品的用量亦相应按比例放大。使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。

4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

5、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期： 12 个月有效。