

## 产品说明书 / Specification Sheet

### Folin-酚试剂

产品编号: SK5031

#### 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 试剂)还原,产生深蓝色(磷钼蓝和磷钨蓝混合物),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  $\mu\text{g/ml}$  蛋白质。

#### 产品组成:

本试剂盒由溶液 A、溶液 B 和 Folin-酚试剂构成,可以用酶标板使用 1000 次或分光光度法 100 次。

- |    |                        |       |
|----|------------------------|-------|
| 1、 | SK5031-1 溶液 A          | 2ml   |
| 2、 | SK5031-2 溶液 B          | 100ml |
| 3、 | SK5031-3 Folin-酚试剂(1N) | 10ml  |

#### 运输和保存条件:

常温下运输,收到后,将溶液 B 和 C4 度保存,Folin-酚试剂 4 度闭光保存,保质期一年。

#### 使用方法:

##### 1 酶标板法测定蛋白质浓度

###### 1、 制作标准曲线

1. 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  $\mu\text{g/ml}$  的蛋白标准溶液。
1. 2 在 96 孔酶标板上取 11 孔,按照下表平行操作。

所加溶液 \ 孔号	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
蒸馏水 ( $\mu\text{l}$ )	20	18	16	14	12	10	8	6	4	2	0
标准蛋白质溶液 ( $\mu\text{l}$ )	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
蛋白终浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100

1. 3 取 24  $\mu\text{l}$  溶液 A 和 1.2ml 溶液 B,混匀,各孔加入 100  $\mu\text{l}$  混合液,混匀,室温下静置 10min。
1. 4 各孔加入 10  $\mu\text{l}$  Folin-酚试剂,迅速混匀,室温下静置 30min。
1. 5 静置 30min 后,在酶标仪上测各孔  $A_{750}$  值。
1. 6 以各孔  $A_{750}$  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。
- 2、 未知样品蛋白质浓度测定
2. 1 在 96 孔酶标板上取 3 孔,其中两孔各加入 20  $\mu\text{l}$  样品稀释液,另外一孔加入 20  $\mu\text{l}$  蒸馏水作为空白对照。
2. 2 取 6  $\mu\text{l}$  溶液 A 和 300  $\mu\text{l}$  溶液 B,混匀,各孔加入 100  $\mu\text{l}$  混合液,混匀,室温下静置 10min。
2. 3 各孔加入 10  $\mu\text{l}$  Folin-酚试剂,迅速混匀,室温下静置 30min。

## 产品说明书 / Specification Sheet

2. 4 静置 30min后, 在酶标仪上测各孔A<sub>750</sub>值, 并计算样品孔A<sub>750</sub>值的平均值。

2. 5 根据下式计算样品的蛋白质浓度:

$$\text{样品蛋白质浓度} (\mu\text{g/ml}) = \text{样品孔A}_{750}\text{平均值对应的蛋白浓度} \times \text{样品稀释倍数}$$

### 2 分光光度法测定蛋白质浓度

1. 将在 11 个 1.5ml 离心管中分别 0;20;40;60;80;100;120;140;160;180;200  $\mu\text{l}$  的 BSA 浓度在 100  $\mu\text{g/ml}$  的蛋白标准溶液, 用双蒸汽水补齐到 200  $\mu\text{l}$
2. 取 240  $\mu\text{l}$  溶液 A 和 12ml 溶液 B, 混匀, 各管加入 1ml 混合液, 混匀, 室温下静置 10min。各管再加入 100  $\mu\text{l}$  Folin-酚试剂, 迅速混匀, 室温下静置 30min。
3. 静置 30min后, 在分光光度计上测定A<sub>750</sub>值, 并且制作标准曲线
4. 取经过适当稀释的样品在两个离心管中各加 200  $\mu\text{l}$ , 如上所叙述加入一定量的溶液A和溶液B的混合液以及Folin-酚试剂, 在分光光度计上测定A<sub>750</sub>值, 计算两管平均值。
5. 根据标准曲线可以得到稀释后样品的浓度, 再乘以稀释倍数, 就得到原始蛋白质样品的浓度。

### 注意事项:

- 1、 本试剂盒在 4℃ 的环境中避光保存, 保质期半年。
- 2、 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。
- 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 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 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 或 BCA 法蛋白质定量试剂盒。
- 8、 加 Folin-酚试剂后, 在 60 分钟内测定, 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, 防止溶液挥发和与空气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。