

福林酚试剂(B,1M)

产品简介:

Leagene 福林酚试剂(B,1M)英文名称为 Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent, 即福林酚试剂盒中的试剂 B, 也就是福林酚 II 液或福林酚乙液。本产品采用钨酸钠、钼酸钠、磷酸、盐酸等按一定比例加热回流后加入硫酸锂精制而成。本品为澄清的淡黄(绿)色到深黄(绿)色的即用型试剂, 浓度为 1N 或 1mol/L, 是 2N 高浓度福林酚试剂浓度的一半, 请根据实验需要直接使用或适当稀释。本品不含苯酚, 但可与酚类、非酚类还原物质发生反应, 形成比色法可检测的发光原。常用于 Lowry 法测定蛋白浓度, 也用于多肽、多酚、酪氨酸和菠萝蛋白酶等的定量测定。

蛋白浓度测定有多种方法, 如 BCA 法、Bradford 法、Lowry 法和双缩脲法等。Lowry 法, 又名 Folin-Phenol 法, 操作简单, 为蛋白质测定最经典的高灵敏度方法之一。Lowry 法检测原理与双缩脲法相同, 但前者在后者的基础上加入了福林酚试剂, 极大地增加了显色量, 从而显著提高了检测灵敏度。

Lowry 法检测的基本原理如下: 蛋白质分子含有与双缩脲相似的肽键, 在碱性条件下, 与铜离子反应, 结合生成蛋白质-铜络合物。加入福林酚试剂后, 试剂中的磷钼酸盐-磷钨酸盐被蛋白质-铜络合物所含的酪氨酸和色氨酸等还原, 形成深蓝色磷钼蓝和磷钨蓝混合物, 产生 550-750nm 之间提高吸光度的色原体, 颜色深浅与蛋白质浓度成正比, 故可用比色的方法测定蛋白质的含量。在不存在铜离子的情况下, 颜色深浅主要取决于蛋白质中酪氨酸和色氨酸的含量, 在较小程度上由半胱氨酸和组氨酸决定。铜离子对酪氨酸、色氨酸或组氨酸的颜色形成没有影响, 但会减少半胱氨酸导致的颜色形成。一般情况下, 750nm 或 660nm 处的吸光度用于定量较低的蛋白质浓度, 而 550nm 处的吸光度用于定量更高的蛋白质浓度。

本成品有腐蚀性, 应避免接触皮肤、粘膜等; 试剂颜色变为墨绿色时应弃用。该产品仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	PT0055	PT0055	PT0055	Storage
福林酚试剂(B,1M)	50ml	100ml	500ml	RT
使用说明书	1 份			

自备材料:

- 1、酶标仪或分光光度计、96 孔板或比色皿、微量移液器、离心机、离心管

- 2、福林酚试剂(A): 2%碳酸钠+0.4%氢氧化钠、1%硫酸铜、2%酒石酸钾钠等

操作步骤(仅供参考):

1. 配制福林酚试剂(A): 分别取 1ml 1%硫酸铜和 1ml 2%酒石酸钾钠混合均匀, 再加入 100ml 2%碳酸钠+0.4%氢氧化钠混匀即可。次序颠倒可能有沉淀产生。本试剂只能当天使用, 如产生沉淀或混浊需重新配制。
2. (自备)配制蛋白标准 2mg/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。
3. 用稀释液(见注意事项 1)参考下表稀释成各种浓度的蛋白标准溶液。

管号(加入量 μ l)	蛋白标准(2mg/ml)	稀释液	蛋白浓度(μ g/ml)
0	1	100	0
1	25	975	50
2	50	950	100
3	100	900	200
4	150	850	300
5	200	800	400
6	250	750	500

4. 按照下表在离心管中依次加入并进行吸光度测定:

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
稀释液	0.1		
系列蛋白标准		0.1	
待测蛋白样品			0.1
福林酚试剂(A)	5	5	5
混匀, 室温放置 10min			
福林酚试剂(B,1M)	0.5	0.5	0.5
每加一管立即混匀, 室温放置 10min。			

5. 测定: 750nm 波长下, 以 0 号管调零, 测定各管的吸收值 (OD 值)
6. 计算: 根据 0~6 号蛋白标准管所测数据绘制标准曲线, 计算出待测样品蛋白浓度 (如果待测样品浓度超出标准曲线范围, 请适当稀释后重新检测)。

注意事项:

1. 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。

2. 若福林酚试剂开封过久, 由黄色变为绿色, 可加入几滴液溴, 稍加煮沸, 试剂恢复至原色即可使用。
3. 待测样品中若含有酚类、柠檬酸和巯基化合物, 会对福林酚试剂的还原反应有干扰。
4. 福林酚仅在酸性条件下稳定, 但磷钼酸盐-磷钨酸盐还原反应条件为 pH10。故加入福林酚试剂后请立即混匀, 以防磷钼酸-磷钨酸盐被破坏, 显色程度减弱。
5. Lowry 法测定蛋白质浓度显色受待测样品中的酪氨酸、色氨酸含量影响, 标准曲线不是严格的直线形式。
6. 本产品有腐蚀性, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其它物品。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 室温避光保存, 一年有效。开封后建议 4°C 保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
CC0005	磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁)
CC0565	粪便 DNA 样本保存管
CZ0047	任氏液(Ringer's Solution)
CZ0063	改良台氏液(Tyrode's Solution)
DH0105	苏木素伊红(HE)染色试剂盒(含分化液和返蓝液)
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
PT0008	改良 Lowry 法蛋白定量试剂盒
PT0058	福林酚试剂(A)
TE0441	菠萝蛋白酶检测试剂盒(福林微板法)
TO1001	总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(ABTS 微板法)