

タンパク定量 (Low ry -TCA 法)

Original ;Low ry et al.,1951

Modified ;Bensadoun & Weinstein,1976

試料 (タンパク質 5 -50mgを含む)

▼ H₂Oを加えて 15mLとする。

25mLの試薬 Aを加える。

▼ 室温 (20) 15m in

1mLの試薬 Bを加える。

▼ 3000 xg,20m in,4

ppt.

▼ 上清を完全に除去する。(アスピレーター)

0.2mLの H₂Oを加える。

2mLの試薬 Cを添加し、混合する。

▼ 室温 (20) 10m in

0.2mLの試薬 Dを加え、素早く混合する。

▼ 室温 (20) over 30m in

吸光度測定

▼ 吸収極大の A_{750 nm}で測定する。

(濃い場合には 500 nmで測定する。)

標準曲線からタンパク質量を算出する。

必要ならば、標準試料と検体との発色率の差異に対して補正を行う。

試薬 A

2% (w/v) NaDOC

試薬 B

24% (w/v) TCA

試薬 C :炭酸ナトリウムのアルカリ性銅溶液

50mL S-1,1mL S-2,1mL S-3

Stock solution

S-1.2% (w/v) Na₂CO₃ / 0.1M NaOH

S-2.1% (w/v) Sodium Tartrate (酒石酸ナトリウム)

S-3.05% (w/v) CuSO₄ · 5H₂O

試薬 D :希釈 Folin試薬

0.5xフェノール試薬 (市販品を 2 倍希釈)

試薬 E :Protein Standard solution

0.1% (w/v) BSA

Na-DOC = Deoxycholic Acid Sodium Salt

TCA = Trichloroacetic Acid

BSA = Bov in Serum A lbum in ,Fraction V