

非干扰型蛋白浓度测定试剂盒

产品货号: 26473

产品规格: 250 assays

产品简介:

该产品是排除绝大多数实验室常规试剂的干扰的光学定量方法, 它可以去除离子、非离子、两性去污剂、还原试剂、螯合试剂、Tris、糖、两性电解质、尿素、硫尿、盐酸胍等变性试剂, 对于在Laemmli Buffer等蛋白质上样缓冲液, 2D Sample Extraction Buffer、高浓度的 β -巯基乙醇($<1.5M$)和脂质体中的蛋白质也可以定量。蛋白质质量在 $0.5\sim 50\mu g$ 之间有良好的线性关系, 需要的样品体积在 $1\sim 50\mu l$, 特殊的沉淀试剂可以去除掉绝大多数干扰物质, 被沉淀的蛋白质与含有铜的碱性物质相混合, 未与蛋白质相结合铜在被还原为一价后与特定的生色试剂反应, 产生特定的 $480nm$ 吸收波长。所以随着蛋白质的浓度增加, 未与蛋白质结合铜相应减少, 这样特定的吸收波长的吸收值与溶液中的蛋白质浓度成反比, 这种蛋白质定量方法不受氨基酸副链和蛋白质的种类的影响, 本试剂盒可以做250次微量定量。

产品特点:

1. 整个实验过程大约需要 45min 左右。
2. 定量过程不受到非蛋白的多种干扰因素影响。
3. 定量范围在 $0.5\sim 50\mu g$ 。
4. 适合对各种生物的细胞或组织裂解液或 2D 电泳细胞裂解液中样品的直接进行定量。

试剂盒组成:

组份	250 assays	保存条件
沉淀试剂一	125ml	室温
沉淀试剂二	125ml	室温
BSA标准蛋白 (2mg/ml)	2.5ml	$-20^{\circ}C$
铜试剂	25ml	$2-8^{\circ}C$
生色试剂A	250ml	$2-8^{\circ}C$
生色试剂B	2.5ml	$-20^{\circ}C$, 避光

实验前准备:

在进行定量前, 根据操作步骤和蛋白质的定量数量, 将生色试剂B: 生色试剂A按照1:100体积比相混合, 制得生色试剂混合液在 $4^{\circ}C$ 条件下可以保存一个月。

操作步骤:

A. 分光光度法

1. 将取 12 支 1.5ml 的离心管, 每两管为相同编号, 分别在不同编号的离心管中加入 0、4、8、12、20、25 μl 的蛋白质标准溶液, 相同编号的离心管加入相同体积的蛋白质标准溶液。
2. 另取两支 1.5ml 的离心管, 分别加入同样体积的 $1\sim 50\mu l$ 的待定量的蛋白质样品溶液。
- ✓ 所加入的待定量的蛋白质样品溶液的最大体积为 $50\mu l$, 每支管中的蛋白质的最大量不要超过 $50\mu g$, 如果蛋白质样品的浓度较高, 可以用双蒸水做适当稀释。
- ✓ 如果待定量的蛋白质样品溶液中没有干扰物质存在, 可以继续直接跳到步骤 7 进行实验。
3. 在以上 14 支试管中加入 0.5ml 沉淀试剂一, 涡旋振荡 30sec, 在室温下放置 2~3min。
4. 加入 0.5ml 沉淀试剂二, 涡旋振荡 30sec。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

5. 转置冷冻离心机中于 4°C, 13000rpm (15000g) 离心 15min, 这样会在试管的底部形成可见或不可见的紧密的蛋白质沉淀团块。
6. 将试管从离心机上取出, 用枪头尽可能去除上清, 保留沉淀, 再将试管倒置在滤纸上, 以便让试管中的残液流干。
- ✓ 离心结束后, 立即去除上清, 否则时间久了, 蛋白质团块会慢慢扩散到溶液中同时变小; 离心时在试管上做记号, 以便了解蛋白质团块在离心结束后, 其在试管底部的方位, 使得在转移上清的过程中, 枪头很方便地不接触到蛋白质团块, 减少蛋白质的损失。
7. 加入 100 μ l 的铜试剂和 400 μ l 的双蒸水, 涡旋振荡 30sec, 直到蛋白质沉淀团块完全溶解。
8. 再加入 1ml 的生色试剂混合液, 颠倒试管混匀几次。
9. 室温下放置 15~20min, 在 10min 内, 将 A480 波长处的吸收值测量完毕。
10. 以相同编号的离心管吸收值的平均值为纵坐标, 对应的 BSA 蛋白量为横坐标, 在坐标纸上或用 Microsoft Excel 软件中绘制 BSA 标准曲线。
- ✓ 在做标准曲线时, 不要将空白样品在 A480 波长处的吸收值扣除, 因为空白样品在 A480 波长处的吸收值是最大的。
11. 根据标准曲线和待定量的蛋白质样品溶液的 A480 吸收值的平均值, 计算出所对应的经过稀释后的蛋白质样品溶液的浓度, 从而得出蛋白质样品溶液的原始浓度。

B. 酶标板法

1. 前面操作方法 1~8 与分光光度法相同。
2. 转移 1.5ml 离心管中 200~250 μ l 混合液到相应的 96 孔酶标板的各孔中, 在 10min 内, 将 A480 波长处的吸收值测量完毕。
3. 其余步骤与与分光光度法后续步骤 10 相同, 根据标准曲线和稀释倍数计算出蛋白质样品溶液的原始浓度。

常见问题分析:

1. 第 6 步要尽量去除上清, 保留沉淀, 再将试管倒置在滤纸上, 以便让试管中的残液流干。也可以第六部操作结束后, 再重复步骤 3~6 (用 0.5ml 沉淀试剂一和 0.5ml 沉淀试剂二), 清洗一次。
2. 如果标准曲线线性关系不明显, 或线性关系不成直线。必须保证第 5 步有足够的离心速度和时间, 以保证蛋白质能够完全沉淀。
3. 所加的蛋白质的量必须在定量范围内, 否则需要将样品做适当稀释。
4. 蛋白质浓度定量偏低, 一般是蛋白在第 6 步有损失。如果残留液难以吸取干净, 可以保留 20 μ l 左右的残留液, 加入乙醇: 乙醚为 1:1(v/v) 的溶液 1ml, 洗涤沉淀。然后重复第 5 步和第 6 步实验。
5. 沉淀试剂一具有腐蚀性和刺激性, 请在通风橱中使用, 并做好防护措施。
6. 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。
7. 该产品中包含配套的 BSA 标准蛋白溶液, 由于 BSA 易受环境, 人为, 温度等因素的影响造成失效, 建议收到货后将 BSA 溶液分成多个小管进行冷冻保存, 避免反复冻融造成 BSA 降解失活。
8. 本试剂盒只能够用于体外实验, 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, 收到后将沉淀试剂一和沉淀试剂二常温下保存, 将生色试剂B于-20°C环境下避光保存, 将BSA蛋白标准液于-20°C环境下保存, 生色试剂A和铜试剂于2~8°C环境下保存, 保质期两年。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com