

紫外法蛋白定量试剂盒

产品简介:

蛋白质分子中存在含有共轭双键的酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸,使蛋白质在 270 ~ 290nm 波长范围内具有吸收紫外光的性质,其中酪氨酸的最大吸收峰为 275nm,色氨酸的最大吸收峰为 280nm,苯丙氨酸的最大吸收峰为 257nm,在上述波长范围内蛋白质溶液的吸收值与其浓度呈正比,可作定量测定。

Leagene 紫外法蛋白定量试剂盒优点是:操作迅速、简便,不易受低浓度盐类的干扰;缺点是与标准蛋白中酪氨酸、色氨酸含量差异较大的蛋白质,准确性较差,样品中含有嘌呤、嘧啶及核酸会干扰检测结果,常用的紫外法测蛋白浓度的方法有标准曲线法、280nm 与 260nm 吸收差法(Lowry-Kalckar 法或 Warburg-Christian 法)、215nm 与 225nm 吸收差法(Waddell 法)和肽键测定法等方法。该试剂仅用于科研领域,不适用临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	PT0007	PT0007	Storage
		250T	500T	
试剂(A): 蛋白稀释液(10×)		50ml	100ml	RT
试剂(B): 蛋白标准(BSA)		20mg	20mg	RT
使用说明书		1 份		

自备材料:

- 1、紫外分光光度计或全波长酶标仪、石英比色皿或 96 孔板或试管

操作步骤(仅供参考):

- 1、用去离子水或蒸馏水稀释蛋白稀释液(10×)至 1×,即为蛋白稀释工作液,取 1 支 20mg 的蛋白标准,加入 20ml 蛋白稀释工作液,即配制成蛋白标准(1mg/ml), -20℃保存。
- 2、标准曲线法:以紫外分光光度法为例,选用 1cm 的石英比色皿,在 280nm 处以第 1 管作为调零点,分别检测各管吸光度,以 A_{280} 为纵坐标,以蛋白质浓度为横坐标,绘制标准曲线。

试管号	1	2	3	4	5	6	7	8
蛋白标准(1mg/ml)(ml)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0
蛋白稀释工作液(ml)	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	0
蛋白浓度(mg/ml)	0	0.125	0.250	0.375	0.500	0.625	0.750	1.000

取 1ml 待测蛋白加至 3ml 的蛋白稀释工作液中,混匀,紫外分光光度计或全波长酶标仪测定 A_{280} 。根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度,该法适用于蛋白质浓度范围为

0.1~1.0mg/ml。

- 280nm 与 260nm 吸收差法(Lowry-Kalckar 法或 Warburg-Christian 法): 对于含有核酸的蛋白质, 无需制作标准曲线。以蛋白稀释工作液为调零点, 取 1ml 待测蛋白加至 3ml 的蛋白稀释工作液中, 混匀, 紫外分光光度计或全波长酶标仪测定 A_{280} 和 A_{260} , 据经验公式计算待测样品的蛋白浓度, 如蛋白浓度过高应用蛋白稀释工作液稀释后再行检测。

Lowry-Kalckar 法 蛋白质浓度(g/L)= $1.45 \times A_{280} - 0.74 \times A_{260}$

Warburg-Christian 法 蛋白质浓度(g/L)= $1.55 \times A_{280} - 0.76 \times A_{260}$

- 215nm 与 225nm 吸收差法(Waddell 法): 对于蛋白质含量较少的溶液, 适用于该法。以紫外分光光度法为例, 以蛋白稀释工作液作为调零点, 取 1ml 系列蛋白标准 (0.1~1mg/ml) 加至 3ml 的蛋白稀释工作液中, 混匀, 紫外分光光度计或全波长酶标仪测定 A_{215} 和 A_{225} , 以 215nm 与 225nm 吸光度值之差($D=A_{215}-A_{225}$)为纵坐标, 以蛋白浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 再测出未知样品的吸收差, 即可由标准曲线查出未知样品的蛋白质浓度。

或者不用制作标准曲线, 直接按照如下经验公式计算:

$$\text{蛋白质浓度(g/L)} = 144 \times (A_{215} - A_{225})。$$

注意事项:

- 蛋白标准(BSA)粉末溶解于蛋白稀释工作液, 该液中含有防腐剂, 不影响后续检测, 该蛋白标准液-20℃保存。
- 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, 否则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。
- 注意溶液的 pH 值, 这是由于蛋白质的紫外吸收峰会随 pH 值的改变而变化。
- 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, 蛋白标准配制成溶液后应-20℃冻存。

相关产品:

产品编号	产品名称
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
CS0201	细胞线粒体分离试剂盒
DA0001	DAPI 染色液(5ug/ml)
DC0032	Masson 三色染色液
DF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
DM0002	姬姆萨染色液(Giemsa stain,1:9)
TC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)