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。

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:

编号 / 名称	GCPT0007 250T	GCPT0007 500T	Storage
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、紫外分光光度计或酶标仪

2、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，分光光度计或酶标仪测定 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。~~

3、 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)=$1.55\times A_{280}-0.76\times A_{260}$

4、 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：

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

注意事项：

1、 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。

2、 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。

3、 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。

4、 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
GCCS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
GCCS0201	细胞线粒体分离试剂盒
GCDA0001	DAPI 染色液(5ug/ml)
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCDM0002	姬姆萨染色液(Giemsa stain,1:9)
GCTC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)