

紫外法蛋白定量试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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不其浓度呈正比，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；缺点是不标准蛋白中酪氨酸、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。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
紫外法蛋白定量试剂盒	250T/500T	RT	1 份	1 年
试剂(A): 蛋白稀释液(10×)	50ml/100ml	RT	1 份	1 年
试剂(B): 蛋白标准(BSA)	2×20mg/3×20mg	RT	1 份	1 年

自备材料：

- 1、分光光度计或酶标仪
- 2、96 孔板或离心管

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：取若干试管或 96 孔板，如下操作以分光光度法为例。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 A280 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)	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 A280。根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

3、Lowry-Kalckar 法(又称 280nm 和 260nm 吸收差法): 对于含有核酸的蛋白质, 无需制作标准曲线。以蛋白稀释工作液作为调零点, 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 A280 和 A260。根据经验公式计算出待测样品的蛋白浓度, 如果蛋白浓度过高应用蛋白稀释工作液稀释后再行检测。

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

4、Waddell 法(又称 215nm 和 225nm 吸收差法): 对于蛋白质含量较少的溶液, 适用于该法。取若干试管或 96 孔板, 如下操作以分光光度法为例。以蛋白稀释工作液作为调零点, 取 1ml 蛋白标准(1mg/ml)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 A215 和 A225。以 215nm 和 225nm 吸光度值之差(D=A215-A225)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:

- 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, 否则待测蛋白不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、如果没有分光光度计, 也可以使用酶标仪测定, 但应考虑根据比色皿的最小检测体积。
- 4、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品:

Tris-Tricine 阳极缓冲液 (5×, pH8.9)
Tris-Tricine 阴极缓冲液 (5×)
Tris-甘氨酸电泳粉剂 (1×)
Tris-甘氨酸电泳粉剂 (5×)
Tris-甘氨酸电泳缓冲液 (10×)