

Инструкция к набору QuDye® Protein для определения концентрации белка



#### Contents

Русский: Инструкция к набору QuDye® Protein для	
определения концентрации белка	-7



# Инструкция к набору QuDye® Protein для определения концентрации белка

Набор предназначен для определения концентрации белка на флуориметре. Краситель QuDye® Protein селективно связывается с мицеллами SDS-белок, в результате чего нуклеотиды, ДНК, РНК и другие примеси (но не детергенты), присутствующие в пробе, не оказывают влияния на результаты измерений. Набор QuDye® Protein оптимизирован для проведения измерений на флуориметре в диапазоне исходной концентрации белка 12,5—5000 мкг/мл (количество белка после разбавления исходного образца составляет 0,25—5 мкг в 200 мкл образца для измерения). Метод является высокочувствительным и универсальным, что обусловлено малыми колебаниями интенсивности флуоресценции при измерении концентрации различных белков. В состав набора включены все необходимые реагенты. Измерения с помощью набора QuDye® Protein не требуют специальной пробоподготовки, в том числе предварительного прогрева при 95°С. Все измерения проводятся при комнатной температуре и займут, в среднем, 30 минут для 5—10 исследуемых образцов.

#### Состав набора

Компонент набора	Количество			
	A5102 30 assays	15102 100 assays	16102 100 assays (incl. tubes)	25102 500 assays
33115, Пробирка тонкостенная (0.5 mL прозрачный полипропилен), 100 pcs	_	_	1	_
55210, Краситель QuDye® для определения количества белка / QuDye® Protein Quantification Reagent, 200×, 1.5 mL	_	_	_	1



1	1	1	_
1	1	1	5
1	1	1	5
1	1	1	5
1	1	1	5
	1 1 1 1 1	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1     1       1     1       1     1       1     1       1     1       1     1       1     1

Хранить при температуре  $+4^{\circ}$ С. Прогреть до комнатной температуры перед использованием. Транспортировка: до трех недель при комнатной температуре.

Срок хранения 12 месяцев.

! Все измерения с использованием набора QuDye® Protein должны проводиться при комнатной температуре (22—28 °C). Перед началом работы прогрейте все используемые растворы до комнатной температуры. Избегайте нагрева образцов, так как результаты измерений зависят от температуры пробы; в частности, не держите в руках пробирки с образцами непосредственно перед измерениями на флуориметре.

#### Протокол

 Приготовьте рабочий раствор красителя QuDye® Protein из расчета, что на каждый образец и на каждый из трёх стандартов потребуется около
 200 мкл. Для этого разведите 200х концентрат красителя QuDye® Protein
 в 200 раз буфером QuDye® Protein.

Например, для измерения 2 образцов и 3 стандартов необходимо приготовить  $200 \text{ мкл } x 5 = 1000 \text{ мкл рабочего раствора красителя (смешайте 5 мкл$ 

## RU

концентрата красителя QuDye® Protein и 995 мкл буфера QuDye® Protein).

! Рабочий раствор красителя рекомендуется использовать в течение нескольких часов после приготовления. При проведении отсроченных измерений рекомендуется беречь от света готовый рабочий раствор красителя.

- ! Для приготовления рабочего раствора красителя используйте только пластиковую посуду. Стеклянная посуда может сорбировать на своих стенках краситель, что приведет к снижению концентрации красителя в образцах и искажению результатов измерений.
- Подготовьте три тонкостенные, оптически прозрачные 0,5 мл пластиковые пробирки для стандартов и по одной пробирке для каждого измеряемого образца. Подпишите крышки пробирок (не делайте пометок на стенках пробирок, так как это может привести к некорректному определению интенсивности флуоресценции).
- Внесите в отдельные пробирки по 190 мкл рабочего раствора красителя
   QuDye® Protein и по 10 мкл каждого из трех стандартов, поставляемых в наборе. Перемешайте на вортексе 2–3 секунды, сбросьте капли.
- Внесите в отдельные пробирки по 180–199 мкл рабочего раствора красителя
   ОиDye® Protein и по 20–1 мкл образца (конечный объём в каждой пробирке
   должен составить 200 мкл). Перемешайте на вортексе 2–3 секунды, сбросьте
   капли.

Разведение исследуемого образца опционально и зависит от его исходной концентрации. Исходная концентрация образца может находиться в диапазоне 12,5—5000 мкг/мл; однако после разведения образца в рабочем растворе

красителя QuDye® Protein количество белка должно соответствовать диапазону измерения флуориметра: 0,25−5 мкг белка в 200 мкл образца для измерения. Таким образом, образец с минимально допустимой исходной концентрацией белка 12,5 мкг/мл следует разбавить в 10 раз до 1,25 мкг/мл (в пробирку для измерения внесите 180 мкл рабочего раствора красителя и 20 мкл образца 12,5 мкг/мл, что соответствует 0,25 мкг белка), а образец с максимально допустимой исходной концентрацией белка 5000 мкг/мл следует разбавить в 200 раз (в пробирку для измерения внесите 199 мкл рабочего



раствора красителя и 1 мкл образца 5000 мкг/мл, что соответствует 5 мкг). В то же время следует избегать использования маленьких объёмов при разбавлении исходного образца, поскольку неточность пипетирования маленьких объёмов может сказаться на результатах измерений.

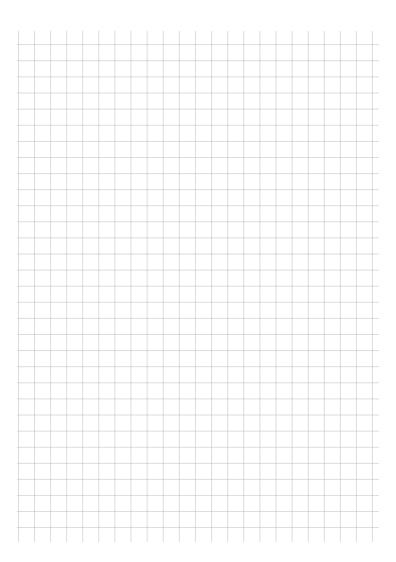
- Инкубируйте все пробирки (содержащие стандарты и исследуемые образцы)
   15 минут при комнатной температуре.
- 6. Проведите измерение интенсивности флуоресценции.

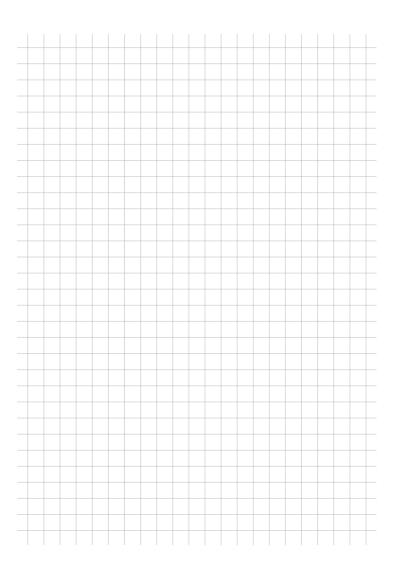


### Измерение интенсивности флуоресценции на флуориметре

Спедующие пункты спедует выполнять согласно инструкции к флуориметру. В зависимости от версии флуориметра пункты меню могут отличаться от приведенных ниже.

- 1. После включения прибора выберите пункт «Quant It Protein». Нажмите «Go».
- При каждом новом приготовлении рабочего раствора красителя следует проводить калибровку флуориметра. Выберете пункт «Run new calibration» и нажмите «Go».
- Поместите в гнездо пробирку, содержащую стандарт #1, закройте крышку, нажмите «Go». Когда прибор проведет измерение (около 3 сек), удалите пробирку со стандартом #1.
  - Поместите в гнездо пробирку, содержащую  $\mathit{стандарт}~\#2$ , закройте крышку, нажмите «Go». Когда прибор проведет измерение, удалите пробирку со  $\mathit{стандартом}~\#2$ .
  - Поместите в гнездо пробирку, содержащую  $\mathit{стандарт}~\#\mathcal{J}$ , закройте крышку, нажмите «Go». Когда прибор проведет измерение, удалите пробирку со  $\mathit{стандартом}~\#\mathcal{J}$ .
- После успешного завершения калибровки поместите в гнездо пробирку с экспериментальным образцом, закройте крышку, нажмите «Go». На экране прибор покажет значение QF Value.
  - Рассчитайте концентрацию белка по формуле: Концентрация белка в образце = QF Value x 200/объем образца; или введите объем образца в прибор.







22.09.509-QM Issued by INSPECT

