Lumiprobe
Life science solutions



Инструкция к набору QuDye® Protein для определения концентрации белка

Lumiprobe Corporation. All rights reserved.

Contents

Русский: Инструкция к набору QuDye® Protein для
определения концентрации белка 3-7

RU

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°C. 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	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
65210, Краситель QuDye® для определения количества белка / QuDye® Protein Quantification Reagent, 200×, 300 uL	1	1	1	—

T1750, Буфер QuDye Protein / QuDye Protein buffer, 1x, 60 mL	1	1	1	5
B3650, Стандарт #1 / Protein standard, 0 ng/uL, ТЕ буфер, 1 mL	1	1	1	5
B4650, Стандарт #2 / Protein standard, БСА 200 ng/uL в ТЕ буфере, 1 mL	1	1	1	5
B5650, Стандарт #3 / Protein standard, БСА 400 ng/uL в ТЕ буфере, 1 mL	1	1	1	5

Хранить при температуре +4°C. 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

1. 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 мкл x 5 = 1000 мкл рабочего раствора красителя (смешайте 5 мкл 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.

2. 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).
3. 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.
4. Внесите в отдельные пробирки по 180–199 мкл *рабочего раствора красителя QuDye® 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.

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

Измерение интенсивности флуоресценции на флуориметре

Следующие пункты следует 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».
2. При каждом новом приготовлении рабочего раствора красителя следует проводить калибровку флуориметра. Выберете пункт «Run new calibration» и нажмите «Go».
3. 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 *стандарт #2*, закройте крышку, нажмите «Go». Когда прибор проведет измерение, удалите пробирку со *стандартом #2*.

   Поместите в гнездо пробирку, содержащую *стандарт #3*, закройте крышку, нажмите «Go». Когда прибор проведет измерение, удалите пробирку со *стандартом #3*.
4. 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.

Ver. MZ8YG
#5555B

22.09.509-QM
Issued by INSPECT

www.lumiprobe.com