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 ..... 3-6

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 | |
|---|---|---|
| | 15102<br>100<br>assays | 25102<br>500<br>assays |
| 15210, Краситель QuDye для определения количества белка / QuDye Protein Quantification Reagent, 200×, 100 uL | 3 | — |
| 55210, Краситель QuDye для определения количества белка / QuDye Protein Quantification Reagent, 200×, 1.5 mL | — | 1 |
| S1750, Буфер QuDye Protein / QuDye Protein buffer, 1x, 50 mL | 1 | 3 |
| B3650, Стандарт #1 / Protein standard, 0 ng/uL, TE буфер, 1 mL | 1 | 1 |

| | | |
|---|---|---|
| B4650, Стандарт #2 / Protein standard, БСА 200 ng/uL в TE буфере, 1 mL | 1 | 1 |
| B5650, Стандарт #3 / Protein standard, БСА 400 ng/uL в TE буфере, 1 mL | 1 | 1 |

Хранить при температуре +4 °C. Прогреть до +20 °C перед использованием.

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 200x 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. IPPJP
#5555B

22.09.509-QM
Issued by INSPECT

www.lumiprobe.com