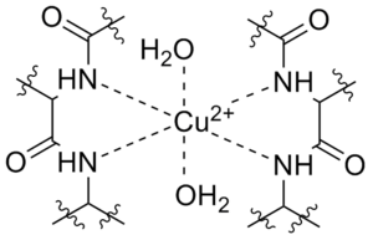
Quantitative tests of proteins

- 目的:一般常用的蛋白質定量分析方法，是利用試劑與蛋白質作用並產生顏色變化，其變化程度與蛋白質濃度有線性相關，所以可利用分光光度計測量特定波長下的吸光值，即可推測蛋白質的濃度。

- 雙縮脲試劑（Biuret reagent）是一個用於鑑定蛋白質的分析化學試劑。它是一個鹼性的含銅試液，呈藍色，由1%氫氧化鉀、幾滴1%硫酸銅和酒石酸鉀鈉配製。
- 如果分析物含有蛋白質，那麼會看到溶液變成紫色。具有兩個或兩個以上肽鍵的化合物皆可與雙縮脲試劑產生紫色反應。蛋白質的肽鍵在鹼性溶液中能與Cu^{2+}絡合成紫紅色的絡合物。顏色深淺與蛋白質濃度成正比。



- 布拉德福蛋白質定量法(Bradford protein assay)為一種利用比色法測定蛋白質濃度的化驗法。考馬斯亮藍G-250在酸性環境下，會從紅色型態轉為藍色型態，並與蛋白質緊密結合。

Reagent

1) Standard albumin solutions
2) Unknown
3) Biuret reagent
4) Bradford reagent

Procedure

A. Biuret test

Absorbance at 540nm

Blank: 1.0mL H_2O + 2.0mL biuret reagent for adjusting 0% T and 0Abs/100%T

分別吸取1.0mL

(a)standard albumin solutions

(3 mg/ml)

(6 mg/ml)

(9 mg/ml)

(b)unknown solution

↓

分別加入2.0mL Biuret reagent

↓

MIX，靜置10mins

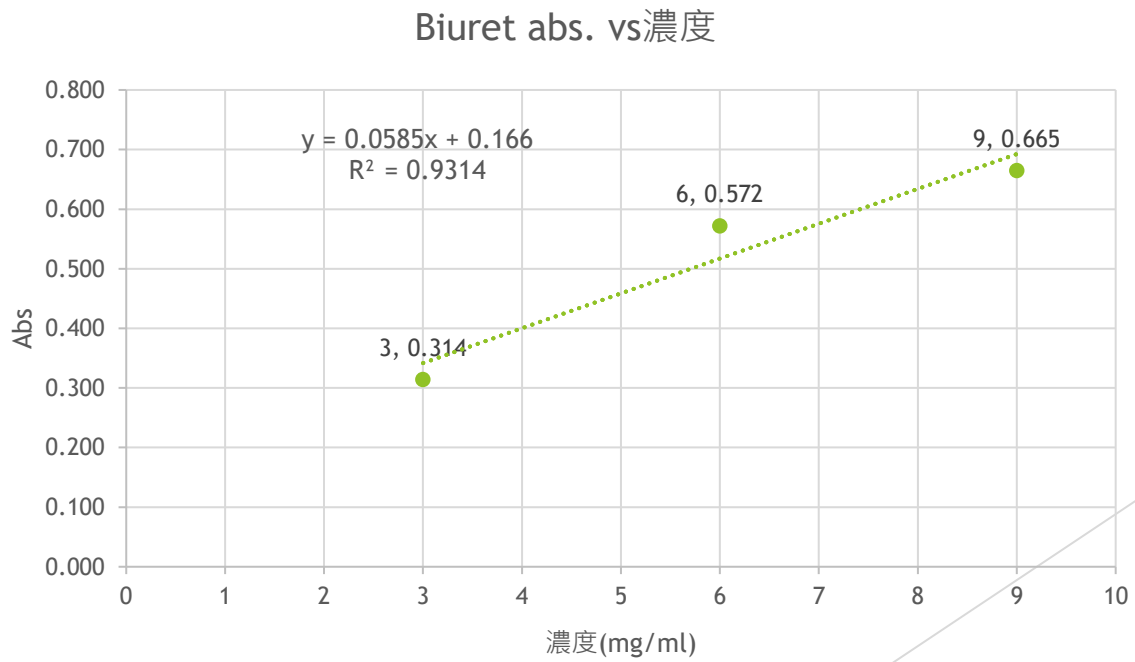
Result

A. Biuret test

Sample	3mg/ml	6mg/ml	9mg/ml	Unknown
Abs_{540}				

計算出unknown的濃度

範例



Procedure

B. Bradford test

Absorbance at 595nm

Blank: 2.0mL H_2O + 2.0mL Bradford reagent

(then drop 3.0mL of the mixed solution into colorimetric tubes for adjusting 0% T and 0Abs/100%T)

分別吸取2.0mL

(a)standard albumin solutions

(4 μg/ml)

(8 μg/ml)

(12 μg/ml)

(b)unknown solution

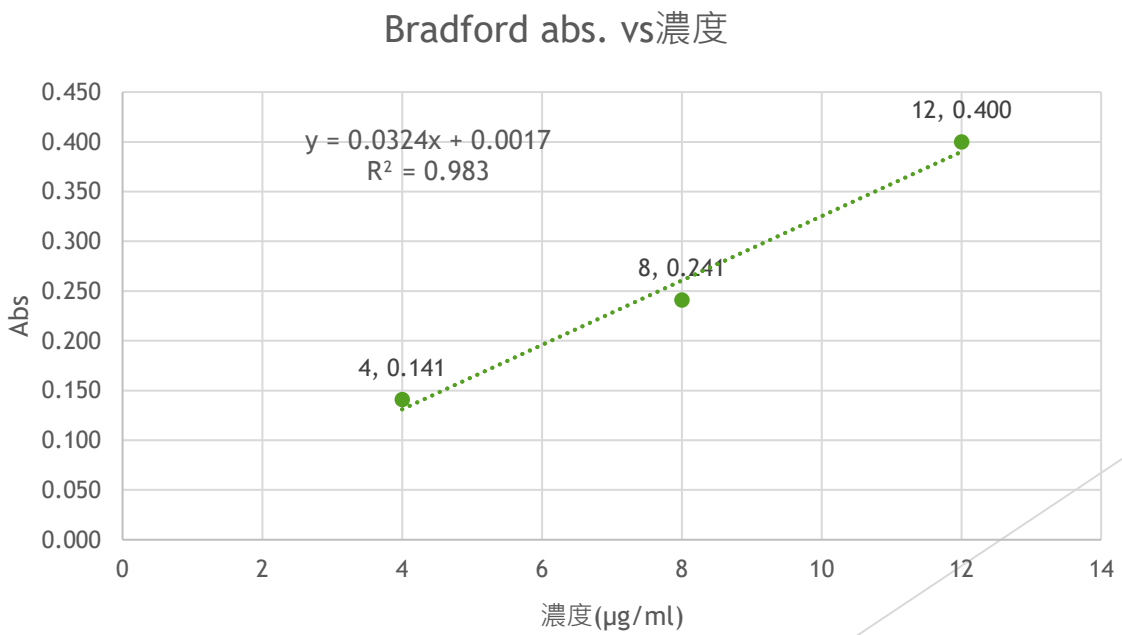
↓

分別加入2.0mL Bradford reagent

Result

B. Bradford test

Sample	4μg/ml	8μg/ml	12μg/ml	Unknown
Abs_{595}				

計算出unknown的濃度

範例