

多肽浓度测定试剂盒(荧光法)

产品编号	产品名称	包装
P0396S	多肽浓度测定试剂盒(荧光法)	100次
P0396M	多肽浓度测定试剂盒(荧光法)	500次

产品简介:

- 碧云天研发生产的多肽浓度测定试剂盒(荧光法), 即Peptide Quantitation Assay Kit (Fluorometric), 也称多肽浓度检测试剂盒(荧光法)或定量荧光肽检测试剂盒(Quantitative Fluorometric Peptide Assay Kit), 是基于使用胺反应性荧光试剂特异性地标记多肽的氨基末端, 然后在激发光(Excitation, Ex) 390nm/发射光(Emission, Em) 475nm处检测荧光值, 从而定量检测多肽的浓度的试剂盒。本试剂盒提供高质量的多肽标准品[1], 实现了多肽浓度测定的简单、高稳定性、高灵敏度和高兼容性, 以便于用于后续的定量或LC、MS和LC/MS、多肽纯化后回收率的检测等应用。
- 本试剂盒与Thermo公司的Pierce Quantitative Fluorometric Peptide Assay (23290)检测原理和检测方法基本一致。
- 本试剂盒适用于多肽浓度的检测, 灵敏度高。与碧云天的BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法) (P0397)相比, 灵敏度更高, 检测浓度下限达到2μg/ml, 最小检测多肽量达到0.02μg, 待测样品体积为1-10μl。
- 本试剂盒检测速度快。与碧云天的BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法) (P0397)相比, 检测速度更快, 仅需约5分钟即可进行荧光测定。
- 本试剂盒在0-1000μg/ml浓度范围内有较好的线性关系。本产品从7.8到1000μg/ml的标准曲线请参考图1。

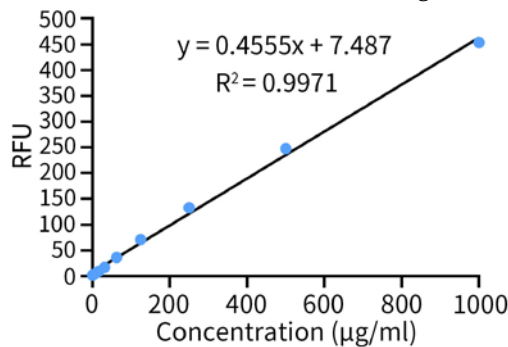


图1. 碧云天多肽浓度测定试剂盒(荧光法) (P0396)多肽标准曲线的实测效果图。图中数据仅供参考, 实际的检测效果可能会由于实验条件的不同而略有不同。

- 本试剂盒化学兼容性好。使用本试剂盒测定多肽浓度, 不受绝大部分样品中的化学物质的影响, 但受含胺缓冲液的影响, 需确保碳酸氢铵(NH₄HCO₃)低于50mM, 无其它游离胺或铵盐。本试剂盒对样品中各种物质的详细的兼容性如下表:

Substance	Compatible Concentration
Acetonitrile	50%
Acetone	25%
Ammonium bicarbonate	50mM
DMSO	50%
DTT (Dithiothreitol)	10mM
EDTA	25mM
Formic acid	0.1%
Iodoacetamide	100mM
Methanol	25%
SDS	1%
TCEP	10mM
Trifluoroacetic acid	0.2%
Urea	1M

- 本试剂盒不仅仅可以用于不同氨基酸的多肽, 也可用于只含单种氨基酸的多肽定量。由于多肽的疏水性、长度、结构、特定的氨基酸含量或序列等差异, 可能会影响最终的检测结果。本试剂盒不能用于测量胺反应性试剂(如生物素化试剂)标记的多肽的浓度。

如果不适用，推荐使用BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法) (P0397)。显色法和荧光法的多肽浓度测定试剂盒的主要特点和差异请参考下表：

产品编号	P0396	P0397
产品名称	多肽浓度测定试剂盒(荧光法)	BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法)
检测方法	荧光法	显色法
检测下限	0.02µg	0.1µg
待测样品体积	1-10µl	1-20µl
样品种类	多肽，不兼容胺反应性标记试剂，可用于只含单种氨基酸的多肽	多肽，兼容胺反应性标记试剂，不推荐只含单种氨基酸的多肽
EDTA兼容性	>5mM	<5mM
还原剂兼容性	<10mM (DTT、TCEP)	No
检测时间	5分钟	15分钟

➢ 本试剂盒小包装可检测100个样品，中包装可检测500个样品。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P0396S-1	Reagent A	8ml
P0396S-2	Reagent B	2ml
P0396S-3	Peptide Standard (1mg/ml)	0.3ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0396M-1	Reagent A	40ml
P0396M-2	Reagent B	10ml
P0396M-3	Peptide Standard (1mg/ml)	1.5ml
—	说明书	1份

保存条件：

4°C保存，一年有效。其中Reagent B须避光保存。-20°C可以保存更长时间。

注意事项：

- Reagent A、B长期储存后如果有沉淀析出，可37°C水浴加热或搅拌使沉淀溶解后使用。
- 需荧光酶标仪一台，可测定激发光(Excitation, Ex) 390nm/发射光(Emission, Em) 475nm处的荧光值。需96孔黑板，推荐选购碧云天的BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖，独立包装) (FCP966)或BeyoGold™黑色透明底96孔细胞培养板(平底带盖，独立包装) (FCP965)。
- 如果需要更大的分析体积，则将样品：Reagent A：Reagent B的体积比例保持在1:7:2，以避免pH值的变化或分析试剂的稀释。使用更大分析体积测定多肽浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量会显著减少。
- 如有样品中碳酸氢铵(NH₄HCO₃)或其它铵盐的浓度大于50mM、有其它游离胺或铵盐或样品可用胺反应性试剂进行标记，推荐使用碧云天BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法) (P0397)。
- 所有试剂需平衡至室温后再使用，使用完毕后各试剂应立即按照试剂盒要求的条件保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 多肽标准品的准备。

a. 多肽样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，如果多肽样品所在溶液不含有干扰本试剂盒检测的物质，也可以用0.9% NaCl、PBS或水稀释标准品。Peptide Standard (1mg/ml)请完全融化并混匀后使用。

注：稀释液不能是强酸或强碱性的溶液。

b. 按照下表配制0、7.8125、15.625、31.25、62.5、125、250、500、1000µg/ml多肽标准。每次稀释时注意充分混匀。

Vial Number	Volume of Dilution Buffer	Volume of Peptide Standard	Final Concentration
A	0µl	80µl Peptide Standard (1mg/ml)	1000µg/ml
B	40µl	40µl of Vial A	500µg/ml
C	40µl	40µl of Vial B	250µg/ml
D	40µl	40µl of Vial C	125µg/ml

E	40μl	40μl of Vial D	62.5μg/ml
F	40μl	40μl of Vial E	31.25μg/ml
G	40μl	40μl of Vial F	15.625μg/ml
H	40μl	40μl of Vial G	7.8125μg/ml
I	40μl	0μl	0μg/ml

2. 多肽浓度检测。

- 取10μl不同浓度多肽标准品加到96孔板的标准品孔中。
- 加适当体积样品到96孔板的样品孔中。如果样品不足10μl，加稀释液补足到10μl。样品原体积记录为Vμl。
- 各孔加入70μl Reagent A。
- 各孔加入20μl Reagent B。
注：不要预混Reagent A和Reagent B。(可选)微孔板振荡器混匀1分钟，微孔板振荡器推荐碧云天的BeyoVortex™数字式微孔板振荡器(E6839)。
- 避光，室温静置5分钟。
注：孵育时间可以大于5分钟。但是反应在5分钟完成，增加孵育时间，信号变化很小。
- 使用荧光酶标仪进行荧光测定，激发光(Excitation)为390nm，发射光(Emission)为475nm。
- 根据标准曲线计算出样品孔的多肽浓度B (μg/ml)。如果加入样品为10μl，则样品孔的多肽浓度B即样品浓度；如果加入样品不足10μl，原体积记录为Vμl，则样品浓度C (μg/ml)=B×10/V。
- 计算示例：
样品原体积V=8μl，加入样品孔中后再加2μl稀释液补足至10μl。参考以上步骤进行检测，标准品荧光信号值对标准品浓度进行作图并拟合标准曲线，得到标准曲线公式。例如，图1的标准曲线拟合的公式为 $y=0.4555x+7.487$ 。如果检测的样品孔荧光信号为308，作为y代入图1的标准曲线公式，计算出的x即样品孔的多肽浓度B (μg/ml)=660μg/ml，则样品中的多肽浓度为C (μg/ml)=660×10/8=825μg/ml。

参考文献：

- Switzar L, Giera M, Niessen WM. J Proteome Res. 2013. 12(3):1067-77.

常见问题：

- 测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加荧光值没有明显变化。**
可能的原因是样品中含有严重干扰本方法测定多肽浓度的物质，可稀释样品或对样品进行适当纯化，详细的兼容性列表请参考产品简介中各种物质的兼容性表格。
- 是否每次测定时都需要做标准曲线？**
建议每次测定时都做标准曲线。因为本方法测定时在5分钟内荧光值会随着时间的延长不断变大，并且需要室温孵育，所以除非精确控制反应的时间和温度，否则如需精确测定宜每次都做标准曲线。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P0006	Bradford蛋白浓度测定试剂盒	1000次
P0006C	Bradford蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型)	800次
P0007	蛋白标准(5mg/ml BSA)	1ml
P0009/P0010	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	200/500/5000次
P0011/P0012	BCA蛋白浓度测定试剂盒	200/500/5000次
P0396	多肽浓度测定试剂盒(荧光法)	100/500次
P0397	BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法)	100/500次
P0398	BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒	200/1000/5000次
P0399	BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度)	200/1000/5000次

Version 2024.11.20