

蛋白定量产品选择指南

用层析法，电泳法，免疫化学的方法对蛋白样本进行分离或分析前通常需要先进行蛋白定量。用比色法进行蛋白定量分析的试剂通常分为两类：一类是间接检测法，即检测与蛋白螯合后被还原铜离子；另一类是直接检测法，即使用与蛋白结合的染料，检测样品中颜色的变化。Thermo Scientific BCA 和改良 Lowry 法蛋白定量分析是基于铜离子螯合。ThermoScientific 660 纳米和考马斯（Bradford）蛋白定量分析是基于染料结合的方法。这些试剂都是熟悉的、稳定的方法，并且能够提供一致可靠的结果。总体而言，这些方法代表了目前比色法检测和总蛋白定量的技术水平。

一.蛋白定量分析方法的选择

为了尽量方便和实用，蛋白定量分析方法不会只特异地针对蛋白（即不受任何非蛋白组分的影响）或对所有种类的蛋白一样灵敏（即不受蛋白组分差异的影响），所以，成功地使用蛋白定量分析试剂包括选择最适合待测样品的分析方法，选择合适的标准品以及了解和控制方法的局限性。

当需要测定样品中的总蛋白浓度时，必须首先选择合适的蛋白定量分析方法。在众多可供选择的蛋白定量分析试剂中选择合适的试剂通常考虑的是所用方法与待测样本的兼容性。目的是为了选择一种测定方法，让使用者对含有干扰物的样本进行最少的操作和预处理。每种方法都有各自的优缺点。因为没有一种试剂可以在所有的环境下都能最好地测定蛋白，大部分研究者在他们的实验室里都有多种蛋白定量分析试剂。我们的 BCA 蛋白定量分析试剂盒和考马斯（Bradford）蛋白定量分析试剂盒可以互为补充，同时为大多数样品提供了两种基本的测定方法。各种辅助试剂和这两种分析方法的改良版本适于特殊样品的需求。

二.蛋白标准品的选择

参考标准品的最佳选择是一种纯的，已知浓度的，在样品中占优势数量的蛋白。但是通常情况下这是不可能的也并不必要；很多实验所需要的只是估计一下样品中的总蛋白浓度。如果感兴趣蛋白的高纯品不能获得或者用它来作标准品太过昂贵，替代的方法是选择一种蛋白，该蛋白需要在所选择的蛋白定量分析实验中会产生非常相似的颜色反应曲线并且在任何时间任何实验室都可以随时使用。对于

日常的蛋白定量分析工作，牛血清白蛋白（BSA）由于其高纯度、容易获得及相对便宜的价格等特性成为很好的蛋白标准品。虽然牛 γ 球蛋白（BGG）包含了几种免疫球蛋白的混合物，但是因为 BGG 产生的颜色反应曲线与免疫球蛋白（IgG）的曲线非常相似，所以在当测定抗体浓度时牛 γ 球蛋白也是一个好的标准品。

Thermo Scientific 蛋白定量分析试剂盒与试剂指南

Thermo Scientific 蛋白定量分析试剂	检测波长	试管分析范围和 (样品体积) †	微孔板分析范围和 (样品体积) ‡
BCA	562 纳米	20-2,000 微克/毫升 (25 微升)	20-2,000 微克/毫升 (50 微升)
BCA-还原剂兼容型	562 纳米	125-2,000 微克/毫升 (25 微升)	125-2,000 微克/毫升 (9 微升)
微量 BCA	562 纳米	0.5-20 微克/毫升 (0.5 毫升)	2-40 微克/毫升 (150 微升)
改良的 Lowry	750 纳米	10-1,500 微克/毫升 (0.2 毫升)	10-1,500 微克/毫升 (40 微升)
660 纳米	660 纳米	25-2,000 微克/毫升 (65 微升)	50-2,000 微克/毫升 (10 微升)
考马斯加强型	595 纳米	100-1,500 微克/毫升 (35 微升) 1-25 微克/毫升 (0.5 毫升)	100-1,500 微克/毫升 (7 微升) 1-25 微克/毫升 (150 微升)
考马斯	595 纳米	100-1,500 微克/毫升 (20 微升) 1-25 微克/毫升	100-1,500 微克/毫升 (5 微升) 1-25 微克/毫升 (150 微升)

Thermo Scientific 蛋白定量分析试剂	重要兼容物	重要不兼容物	蛋白与蛋白间均一性
BCA	去污剂	还原剂, 螯合剂	高
BCA-还原剂兼容型	去污剂和还原剂††	螯合剂类	高
微量 BCA	去污剂	还原剂, 螯合剂	高
改良的 Lowry	SDS	大部分去污剂, 还原剂, 螯合剂	高
660 纳米	去污剂和还原剂; 如果使用处理试剂可与 Laemmli SDS 样品缓冲液兼容	处理试剂用到的离子型去污剂	低
考马斯加强型	大部分还原剂和螯合剂	去污剂	中
考马斯	大部分还原剂和螯合剂	去污剂	低

†总测量体积为 1 毫升时的样品体积, 检测是在 1 厘米比色杯中进行的。

‡总测量体积为 200-300 微升时的样品体积, 检测是在 96 孔板中进行的。

††细胞裂解和蛋白缓冲液的典型用量。