

产品说明书

产品名称: WonderOrange™ Protein Quantitation Kit

产品货号: BN16006

产品规格: 100 T、1000 T

产品内容:

组分	100T	1000T
A. WonderOrange buffer, 10× (contains 2 mM sodium azide)	2.5 mL	25 mL
B. WonderOrange dye, 200× in DMSO	125 μL	1.25 mL
C. Bovine serum albumin (BSA) standard, 2mg/mL (contains 2 mM sodium azide)	40 μL	0.4 mL

次数是基于 96 孔板计算

储存条件

A: 常温保存; B: 常温避光; C: 4℃ 保存。有效期 6 个月。

产品参数

Ex/Em 480/598 nm (结合 BSA), 图 1 是 WonderOrange 的光谱图。

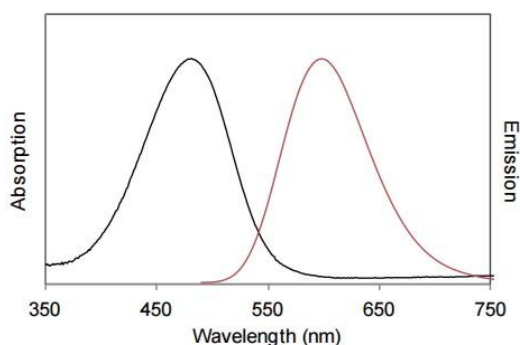


图 1. WonderOrange 与 BSA 在 1× WonderOrange assay buffer 条件下的光谱图。

产品介绍

WonderOrange™ Protein Quantitation Kit 是一个高度敏

感的基于荧光技术定量纯化蛋白质的试剂盒, 其检测蛋白浓度范围为 0.1-10 μg/mL。比起传统定量方法如 BCA、Bradford 或 Lowry 蛋白定量分析, WonderOrange 蛋白定量试剂盒敏感性更佳, 此外, 与 NanoOrange 蛋白质定量测定技术相比具有更加优秀的线性和重现性 (图 2)。WonderOrange 蛋白定量试剂盒可显示不同蛋白质之间的最小变异性, 且荧光信号稳定长达 16 小时; 其受测样本不论为纯化蛋白或抗体皆适用。

需特别注意的是, WonderOrange 对盐类、缓冲液、去垢剂或是其他化学物质都有不同程度的耐受性 (表 2)。

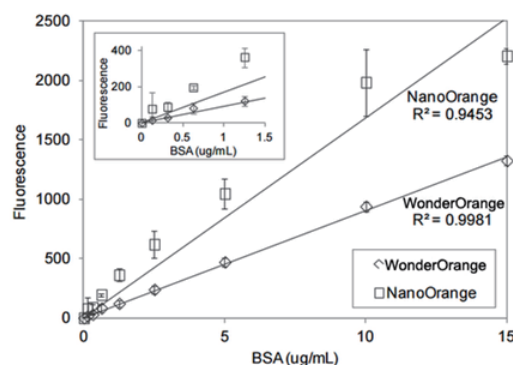


图 2. WonderOrange 比 NanoOrange 有更佳的线性与重现性

使用方法

1、准备 1×WonderOrange 缓冲液：1:10 稀释 10×缓冲液在 dH₂O 中。例如，添加 1 mL 10×缓冲液至 9 mL dH₂O。

注：A 组分 WonderOrange buffer, 10×容易产生沉淀，使用时可 50°C 加热，沉淀溶解后使用。

2、使用前准备 WonderOrange 工作液：将 200×WonderOrange 染料按 1:200 用 1×WonderOrange 缓冲液稀释。例如，添加 25 μL 500×WonderOrange 染料至 5 mL 1×WonderOrange 缓冲液。

注意：您将需要大约 3 mL 工作液制作标准曲线（见表 1）以及每孔检测样品 250 μL 工作液。

3、准备未知样本：10 μL 样本添加 250 μL WonderOrange 工

表 1 准备标准曲线 BSA 样品

	BSA 体积	工作液 体积	BSA 终浓度
A	5 μL BSA std (2 mg/mL)	995 μL	10 μg/mL
B	250 μL solution A	250 μL	5 μg/mL
C	250 μL solution B	250 μL	2.5 μg/mL
D	200 μL solution C	300 μL	1 μg/mL
E	250 μL solution D	250 μL	0.5 μg/mL
F	250 μL solution E	250 μL	0.25 μg/mL
G	100 μL solution F	150 μL	0.1 μg/mL
H	0 mL	250 μL	0 μg/mL

作液。

注意：您可能需要稀释未知样本以得到不同浓度的样本。样品稀释可能会减少干扰物质的影响。

4、准备测蛋白标准曲线所需的 BSA 浓度，如表 1 所示。

5、样本和标准蛋白加热至 90°C- 95°C 10 min，此过程需避光操作。

6、取出样本室温避光放置冷却。短时离心收集全部样本。

7、每个标准样品或未知样品取 200 μL 转移到 96 孔酶标板，荧光酶标仪读数。激发/发射波长为 480/598 nm。

注意：另外，样品可以被转移到荧光试管使用荧光仪测量。如果需要超过 200 μL 体积测量，等比例放大配制方案。

表 2 WonderOrange 对不同化学物质的耐受性

化合物	最高承受浓度
SDS	0.01%
Triton X-100	Below 0.001%
Tween 20	Below 0.001%
CHAPS	Below 0.001%
Sodium deoxycholate (DOC)	Below 0.001%
Urea	10 mM
DTT	100 mM
beta-ME	0.1%
Ammonium sulfate	1 mM
Sodium azide	2 mM
Imidazole	50 mM
DNA	10ug/mL
EDTA	1mM
Sucrose	10 mM (0.34%)
Glycerol	1%
PBS	0.02X
NaCl	1 mM
CaCl ₂	0.01 mM
MgCl ₂	0.2 mM