

MRX A2000 마이크로플레이트 리더의 Bradford Assay를 활용한 단백질 정량 분석

Technical Note
#T230003082

요약

본 테크니컬 노트에서는 마이크로플레이트 리더인 MRXA2000을 활용하여 Bradford Assay를 이용한 단백질 정량 분석의 체계적인 절차를 상세히 안내하고 있습니다.

MRX A2000은 일반적으로 96 Well 또는 384 Well plate와 효과적으로 통합되어 많은 양의 시료를 동시에 분석할 수 있는 특징을 갖추고 있습니다. Bradford Assay 실험을 MRX A2000으로 수행하면, 한 대의 plate에서 단 한 번의 측정으로도 표준곡선 작성과 미지 시료에 대한 정량 분석을 동시에 실시할 수 있습니다. 이로써 실험의 효율성이 향상되며 정확한 단백질 농도 측정을 신속하게 수행할 수 있는 장점이 도출됩니다.

개요

단백질은 생물학적 연구에서 핵심적인 요소로 간주되며, 단백질 농도의 정량 분석은 다양한 실험 및 응용 분야에서 불가피한 요소입니다. 이러한 단백질 정량 분석의 중요성에 대응하여 Bradford 방법은 신속하고 효율적으로 작업할 수 있는 기법으로 널리 사용되고 있습니다.

노트에서는 MRXA2000을 사용하여 Bradford 방법을 적용하는 과정과 그 과정의 장점에 대해 자세히 소개합니다. MRXA2000은 여러 개의 시료를 동시에 분석할 수 있으며 정확한 흡광도 측정을 제공하여 단백질 정량 분석 프로세스를 효율적으로 간소화할 수 있습니다. 이를 통해 결과의 신뢰성을 높이고 실험의 정확성을 향상시킵니다.

Bradford 방법은 1976년 J.C. Bradford가 개발한 실험법입니다. 이 실험법은 "Bradford Assay"로 주로 불립니다.

Bradford assay는 일반적으로 0.1 ~ 1.0 mg/mL 범위 내의 단백질을 신속하고 효율적으로 측정하는 매우 널리 사용되는 실험 기법입니다.

이 방법은 Coomassie Brilliant Blue G-250과 같은 Bradford 염료 시약을 사용하여 시료와 상호 작용하게 됩니다. 단백질이 존재할 경우, 시약과 상호 작용하여 용액의 색상이 변화합니다. 이러한 색상 변화를 분광광도계를 활용하여 정량적으로 측정함으로써 단백질의 양을 정밀하게 분석합니다.

샘플과 실험 방법

시료 준비과정은 다음과 같습니다. 바탕 시료는 증류수를 이용하였으며, 단백질 표준 시료는 100배 희석하여 2 mg/mL로 조제한 후, 표준곡선 작성용 표준 용액을 [표 1]과 같이 제조하였습니다. 미지 시료는 단백질 표준 시료를 활용하여 0.1, 0.5, 0.7 mg/mL로 조제하였습니다.

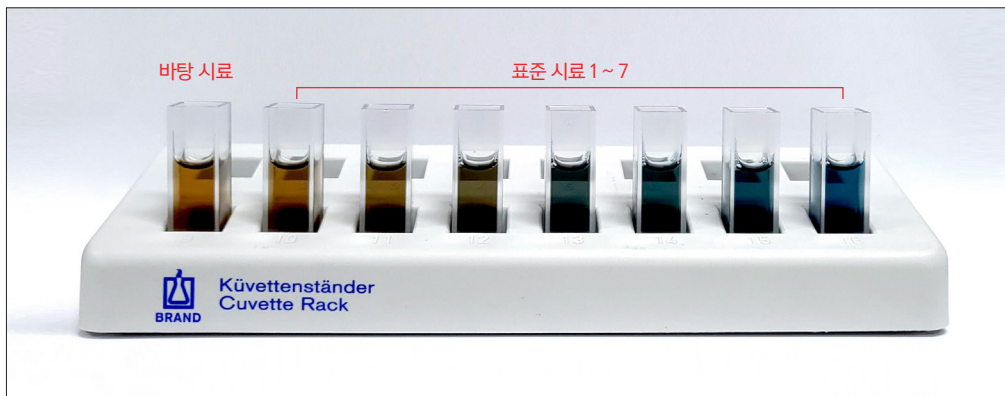
해당 실험에서의 단백질 표준 시료는 Sigma사의 Protein Standard analytical standard(Cat: P539) 200 mg/mL의 샘플이 사용되었습니다.

[표 1] 단백질 표준 시료 제조

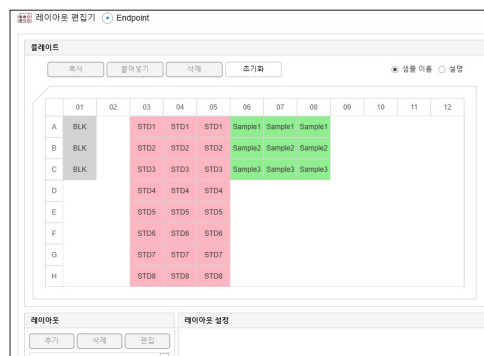
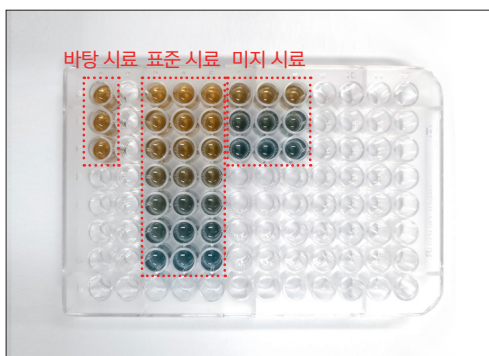
Standard Number	농도(mg/mL)	증류수 분취량(μL)	2 mg/mL 용액 분취량(μl)	총 용량(μl)
1	0.00	1500	0	1500
2	0.05	1462.5	37.5	
3	0.10	1425	75	
4	0.20	1350	150	
5	0.50	1125	375	
6	0.70	975	525	
7	1.00	750	750	

절차1. 시료와 반응 시약을 1 : 5 비율로 튜브에 혼합하여 5분간 방치합니다. 일반적으로 Bradford dye Reagent를 사용하여 검량선을 작성할 때, 0.1 ~ 1.0 mg/mL 사이의 단백질 범위를 권장합니다.

Bradford 반응 시약으로는 Thermo scientific사의 Bradford Dye Reagent, Ready-to-Use soln(Cat: J61522.AP) 시약을 이용하였습니다.



절차2. 96 well plate에 사전에 준비된 바탕 시료, 표준 시료, 그리고 미지 시료를 동일한 양으로 분취합니다. MRX A2000의 전용 소프트웨어인 MRX View를 활용하여 End point 모드에서 595nm 파장에서 각 well의 흡광도를 정밀하게 측정합니다.

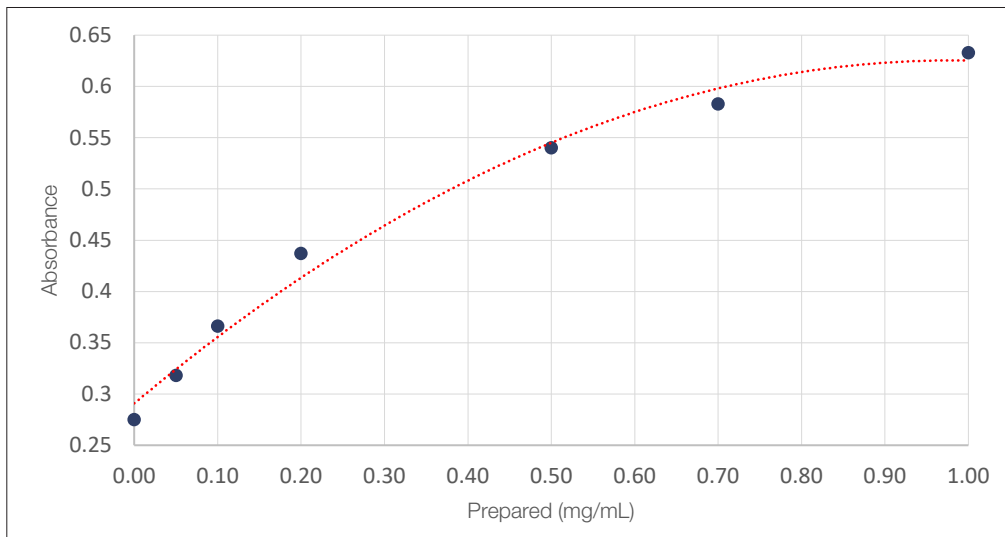


결과

표준 시료에 대한 흡광도 결과는 [표 2]에서 확인 가능하며, [그림 1]은 [표 3]의 측정값을 기반으로 작성된 표준 곡선입니다. 이에 따라, MRXA2000은 단백질 농도 0 ~ 1 mg/mL 범위에서 0.989의 결정계수(R²)를 갖는 것으로 나타났습니다. 이 결과는 Bradford Assay를 사용한 단백질 정량 분석이 가능함을 확인합니다.

미지 시료에 대한 농도 결과는 [표 3]에서 확인 가능합니다. 0.1, 0.5, 0.7 mg/mL로 예상되었던 미지 시료의 실제 측정 농도는 각각 0.099, 0.522, 0.700으로 확인되었습니다. 이러한 결과는 미지 시료의 예상 농도와 높은 일치도를 보여주며, 이를 통해 MRX A2000을 활용한 정밀한 정량 분석이 효과적으로 수행되었음을 시사합니다.

[그림 1] 표준 시료에 대한 표준 곡선



RSQ 값
 $y = -0.3484x^2 + 0.6831x + 0.2907$
 $R^2 = 0.989$

[표 2] 표준 시료에 대한 측정 흡광도

Standard Number	Prepared (mg/mL)	Absorbance
1	0.00	0.275
2	0.05	0.318
3	0.10	0.366
4	0.20	0.437
5	0.50	0.540
6	0.70	0.583
7	1.00	0.633

[표 3] 표준 시료에 대한 측정 흡광도

Sample Number	Expected (mg/mL)	Measured (mg/mL)	Absorbance
1	0.1	0.099	0.355
2	0.5	0.522	0.552
3	0.7	0.700	0.598

결론

Bradford Assay와 MRXA2000을 결합하여, 단백질 농도 0~1 mg/mL 범위에서 단백질의 정량 분석이 가능함을 명확히 보여주고 있습니다. 이 협력은 뛰어난 정량 능력과 정확성을 제공하며, 미지 시료에 대한 농도 결과와의 높은 일치도로 신뢰성을 강조하고 있습니다. 이 결합은 과학적인 연구나 실험에서 단백질 분석에 대한 정확하고 신속한 결과 획득을 지원하는 효과적인 도구로서 활용될 수 있습니다.

klabkis.com/english/0604

해당 테크니컬 노트는 연구용으로만 사용 가능합니다.
본 자료는 예고없이 내용이 변경될 수 있습니다.

테크니컬 노트 문의 및 제안
rnd@klabkis.com / 042-932-7586

T230003082
© K LAB Co.,Ltd. 2017, 2023