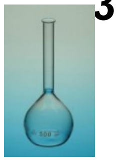
Stanovení bílkovin dle Bradfordové a stanovení sušiny

1) 24 hod. kulturu zcentrifugujeme a 2x promyjeme fosfátovým pufrem

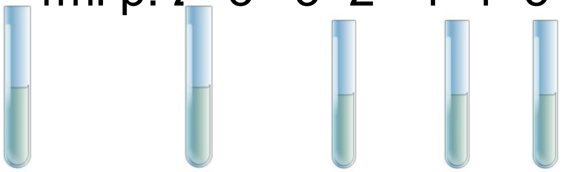
2)Standardy – bílkoviny

3ml + 27 ml pufr



10.000µg/ml → 1000µg/ml

1ml bilk.+4ml p. 2+3 3+2 4+1 5



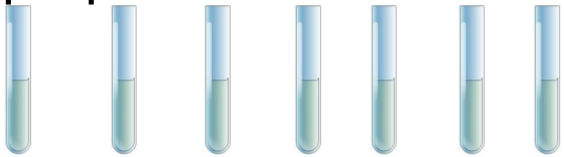
200µg/ml 400 600 800 1000

0,1ml

3) Měření Genesys

0,1 ml pufr pufr

Kalibrační přímka



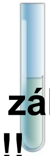
5 ml Coomassie Brilliant Blue G250

Měření vlastního vzorku

po změření kalibrační přímky

5ml C.B.Blue + 0,1ml vzorku (90% zákal)

- do pozice 2. (1. původní blank) !!!!



Příprava vzorků pro měření sušiny a koncentrace bílkovin

- resuspendovat promytou kulturu v malém množství (pár ml) f. pufru

- cca polovinu odlít do erlenky a ředit na zákal:

95% - sušina (T=5)
90% - bílkoviny
85% - sušina
75% - sušina

Přesnou hodnotu zapíši!!!

Měřím na Spekolu 11 při 620 nm

Ze vzorků na určení sušiny pipetuji PŘESNĚ 2 ml do předem zvážených váženek (+pufr)– dám do sušárny 106°C

- po 24 h váženky přijít zvážit!!!!!

Porovnat kultury (obsah bílkovin na sušinu), určit vztah mezi zákalem a sušinou