



蛋白質濃度檢定

Protein Concentration

實驗目標: 通過 **Bradford protein assay** 方法，推斷未知樣本為那一種飲料。

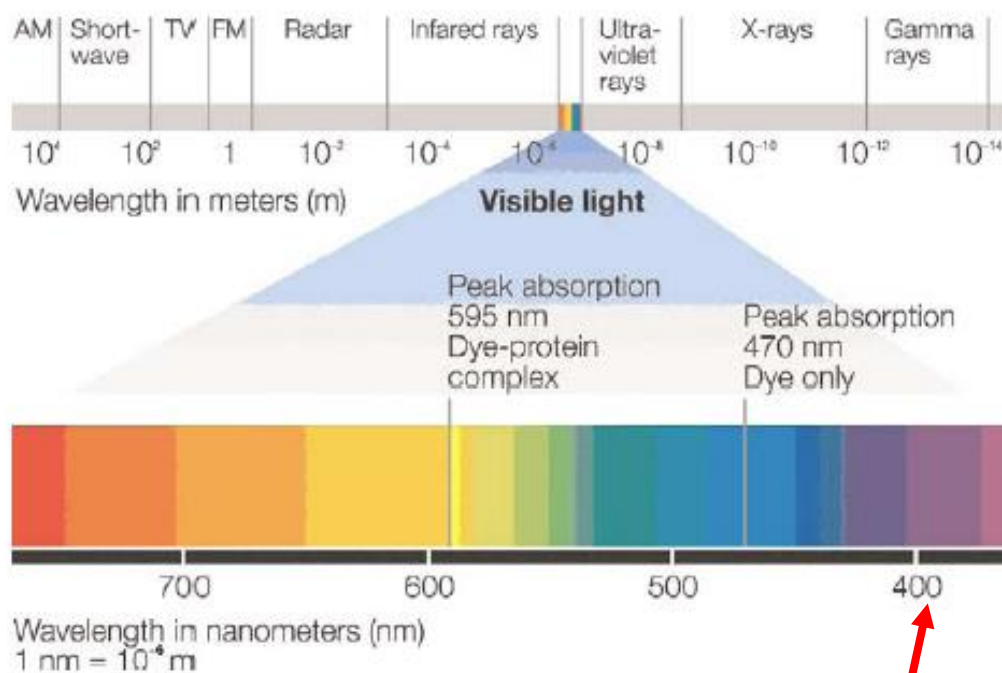
實驗介紹:

Bradford 的 dye-binding method 是利用

Coomassie brilliant blue G-250 (CBG) (考馬斯亮藍 G-250) →

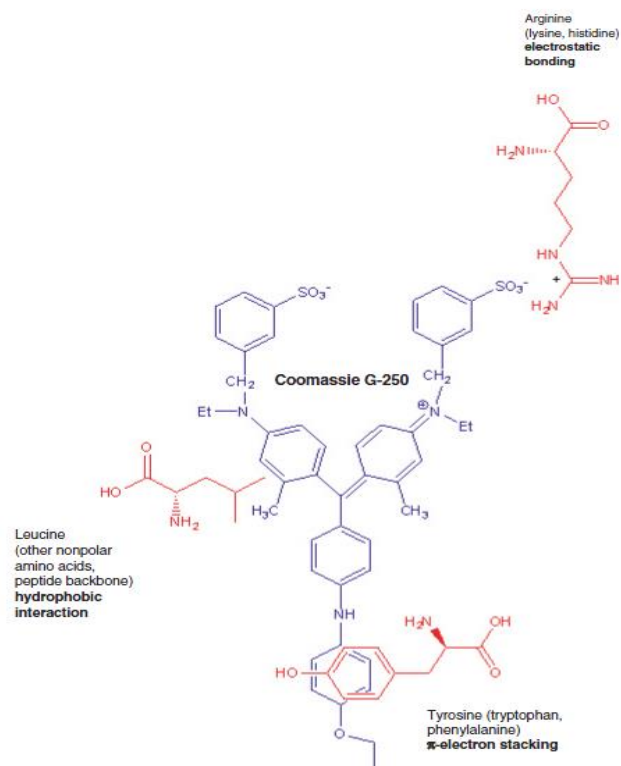


可與蛋白質結合而變色的特性來定量，Coomassie G-250 是一種結構複雜的化合物，這染料在未與蛋白質結合之前會呈現**紅棕色**(因為吸收了波長 **470nm** 的藍光)。而與蛋白質結合之後會呈現**藍色**(因為吸收了波長 **595nm** 的黃光)，這個藍光是可以用肉眼很容易地觀察出來的。若樣本中的蛋白質越多，呈色也會越深。



蛋白質越多，呈色也會越深。

下圖表示了 Coomassie G-250 與蛋白質中的氨基酸如何結合:



Casein 酪蛋白是牛奶中最豐富的蛋白質，它的氨基酸排序如下:

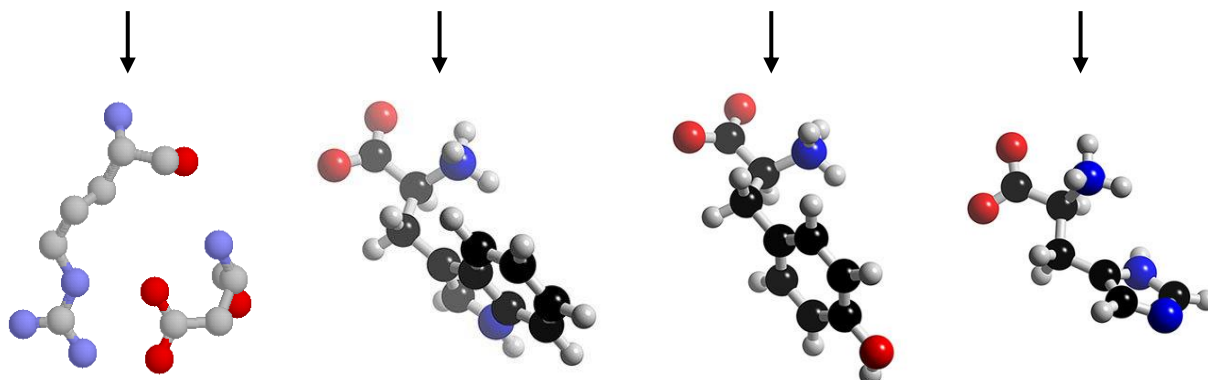
```

1   MKVLILACLVALALARELBELNVPGEIVESLSSSSEESITRINKKIEKFPQSEEQQQTEDBL
61  QDKIHPPAQTSLSVYPPFGPIPNLSLPQNIPLLTQTPVVVPPFLQPEVMGVSKVKEAMAPK
121 QKEMPFPPKYPVEPFTESQSLTLTDVENLHLPLPLLQSWMHQPHQPLPPTVMFPPQSVLSL
181 SQSKVLPVPQKAVPYPRDMPIQAFLLYQEPVLPVLRGPFPIIV
    
```

Fig. 3. Amino acid composition of casein.

Casein 包括有 224 個氨基酸，其中有 13 個氨基酸能與 Coomassie 染料結合得較好:

Arginines 精氨酸 (R)、Tryptophan 色氨酸(W)、Tyrosines 酪氨酸(Y)、Histidines 組氨酸(H)



新聞：

蛋白質過量 骨鬆找上年輕人

楊欣潔

August 21, 2013 06:00 AM ●台灣骨質疏鬆症臨床治療指引受國際肯定，刊登在收錄美國國家臨床指引交換中心（NGC）。指引中提及，攝取過多蛋白質可能會加速骨質疏鬆，但醫師表示，骨鬆好發於老人，老年族群攝取蛋白質應足量，均衡飲食是預防骨鬆之道。

台灣骨鬆治療指引是台灣首篇獲 NGC 收載的指引。指引中指出，動物性蛋白質經代謝後，易增加酸負荷，人體為維持酸鹼平衡，會釋出骨骼中的鹼性離子，其中包含鈣，而被認定造成骨質流失，建議每公斤體重應攝取 1 到 1.5 克蛋白質，以免影響骨骼代謝。

台灣骨鬆學會秘書長詹鼎正表示，蛋白質經人體代謝後會產生酸性物質，為了酸鹼平衡，身體會從骨骼中融出鈣等鹼性物質，製造更多的鹼離子。有些研究發現，在蛋白質攝取較多的民眾尿液中，鈣離子也較高。

詹鼎正解釋，蛋白質攝取應隨年紀而增加，一般年輕人每公斤體重建議攝取蛋白質 0.8 克，65 歲以上老人則每公斤要吃 1.2 克，以 60 公斤老年人為例，每天要攝取 72 克蛋白質，相當於 1、2 兩左右的肉。

不過，蛋白質也是構成骨基質、肌肉的營養素，詹鼎正說，臨床上看到蛋白質攝取較多的老年人，骨鬆機率較少。但一般老年人多半牙齒功能退化，有時咬不動肉，造成蛋白質攝取不足，故易有骨鬆等問題，他建議可以蛋類、豆腐取代。

詹鼎正表示，一般常見「肉食族群」多是年輕人，肉吃得太多，蛋白質攝取也超標，就可能因此加速骨鬆，但年輕族群並非骨鬆好發族群，若攝取超過建議量的肉類，可多吃蔬菜、水果來平衡體內的酸鹼值。

台灣健康署長邱淑媿提醒，存骨本應從小養成高鈣飲食習慣，如喝牛奶，多吃起司、黑芝麻、小魚、傳統豆腐、深綠色蔬菜等；適度曬太陽，讓身體增加製造維他命 D；從事負重運動，強化骨骼，如健走、慢跑、跳繩、伏地挺身、舉啞鈴等。

（楊欣潔）

<http://www.worldjournal.com/view/wjhealthnews/23418022/article-%E8%9B%8B%E7%99%BD%E8%B3%AA%E9%81%8E%E9%87%8F-%E9%AA%A8%E9%AC%86%E6%89%BE%E4%B8%8A%E5%B9%B4%E8%BC%95%E4%BA%BA?instance=med1>

記憶力與蛋白質有關

2013 年 8 月 30 日

【明報專訊】隨年齡漸長，不少人會發現記憶力逐漸減弱。美國科學家研究指出，人類記憶力衰退與大腦缺乏一種蛋白質有關。

研究由美國哥倫比亞大學進行。研究員首先將 8 個志願者死後捐出的人腦做對比。志願者的年齡由 33 至 88 歲，沒有腦部疾病。研究員從大腦的海馬體內，抽出齒狀迴(dentate gyrus)及內嗅皮質(entorhinal cortex)兩個負責記憶的部分，並測試當中的基因活躍狀況。結果發現，齒狀迴內 17 種基因會隨大腦年齡增加而出現改變，而一種控制生產蛋白質「RbAp48」的基因，會隨年齡增長出現顯著退化，令長者腦部的 RbAp48 含量只有年輕人腦部的一半。RbAp48 可令記憶力恢復

研究員再以老鼠做測試，以基因工程令部分老鼠大腦的 RbAp48 生產基因失效，結果發現，缺乏 RbAp48 的年輕老鼠記憶力與年長 4 倍的老鼠一樣差，無法走出迷宮，亦難以辨認曾見過的物件。當研究員令老鼠產生額外的 RbAp48 後，其記憶力便恢復正常。帶領研究的坎德爾(Eric Kandel)博士稱，今次研究說明，與年齡有關的記憶力衰退或可透過增加 RbAp48 獲得改善，將研究影響該蛋白多寡的因素。

(路透社/金融時報)

<http://news.hk.msn.com/international/%E8%A8%98%E6%86%B6%E5%8A%9B%E8%88%87%E8%9B%8B%E7%99%BD%E8%B3%AA%E6%9C%89%E9%97%9C>

1. 為甚麼攝取過多蛋白質可能會加速骨質疏鬆？

2. 以 50 公斤的年輕人為例，他一日要攝取多少克蛋白質？

3. 如攝取超過建議量的動物性，有甚麼方法可以平衡體內的酸鹼值？

4. 「RbAp48」是甚麼？研究員用甚麼方法測試「RbAp48」與記憶力逐漸減弱有關？

實驗:

所以在這次實驗中，我們選擇了以下幾款飲品作為檢測樣本:

--	--	--	--

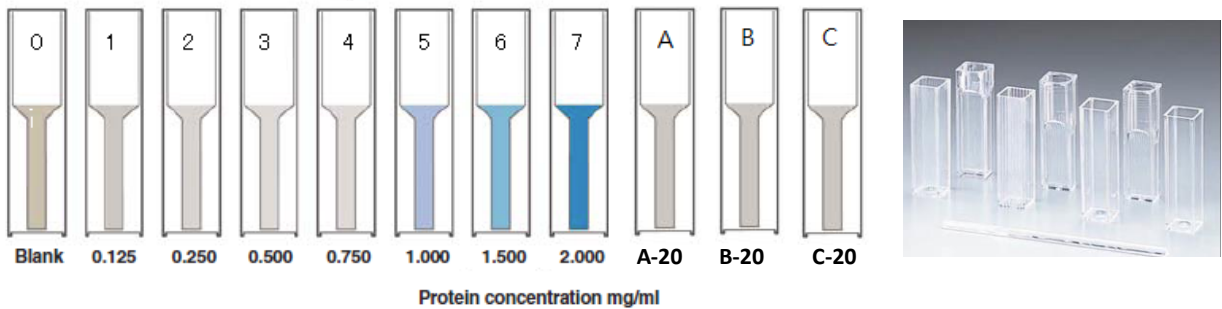
(注意:麥精維他幼中並沒有 **Casein 酪蛋白**成份)

實驗試劑:

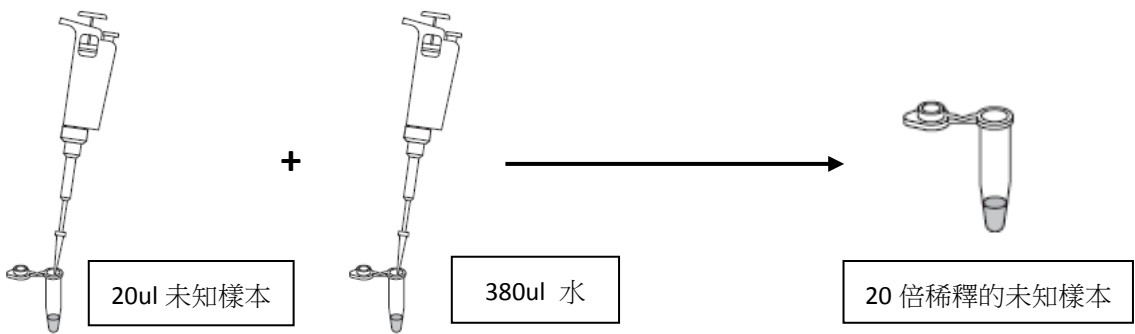
Bovine globulin standard (牛血球蛋白標準樣本)[BSA], (0.0-2.0mg/ml), 40ul		8 支
未知樣本[A,B,C] , 50ul		3 支
水,5ml		1 支
Bradford dye reagent(Bradford 染料)[BF dye], 25ml		1 支

實驗步驟:

1) 用 marker 筆在 11 個比色皿上寫上標記(如下圖)(應寫在比色皿下方有刻紋的位置)



2) 使用 2-20ul 移液槍和 100-1000ul 移液槍, 把 20ul 的未知樣本(A,B,C) 和 380ul 的水混合成 20 倍稀釋的未知樣本(A-20,B-20,C-20)(如下圖)

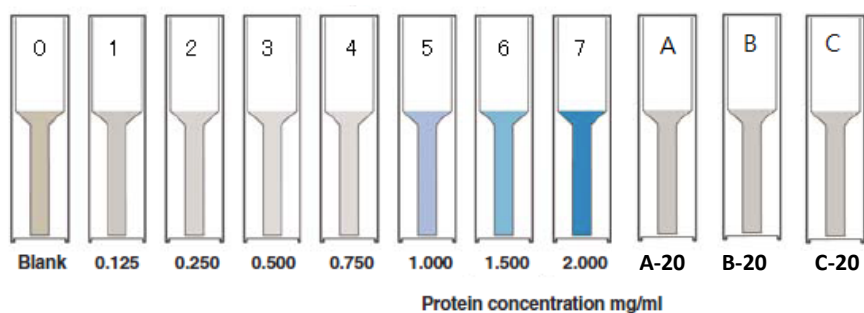


[注意: 每個樣本都要使用新的槍頭]

- 3) 使用 100-1000ul 移液槍，在 11 個比色皿中各加入 1ml 的 BF dye.(1ml = 1000ul)



- 4) 使用 2-20ul 移液槍，把 20ul 的標準樣本和 20 倍稀釋的未知樣本加入相對應的比色皿中(如下圖)

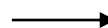
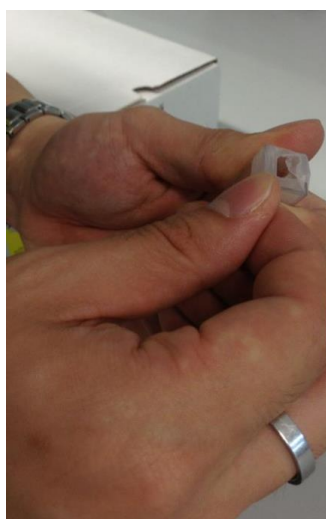
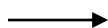


[注意: a) 每個樣本都要使用新的槍頭

b) 加入 20ul 的樣本後，可利用移液槍吸放試劑數次，使樣本和試劑混合

c) 每次加入樣本後，請利用石蠟膜把比色皿封口，以防倒瀉。

- 5) 利用石蠟膜把比色皿封口，然後倒轉一次，使試劑充分混合



- 6) 把 0-7 的比色皿順序排成一列，觀察顏色有何差異

- 7) 把 A,B,C 比色皿和 0-7 比色皿進行比對，以推斷未知稀釋樣品的蛋白質濃度

8) 推算未知樣本的蛋白質濃度(如下例):

假設 20 倍稀釋未知樣本的蛋白質濃度為 0.80mg/ml
 則 未知樣本的蛋白質濃度為 $0.80 \times 20 = 16\text{mg/ml} = 0.016\text{g/ml} = 1.6\text{g}/100\text{ml}$

樣本 A:

樣本 B:

樣本 C:

9) 未知樣本應為下列那一款飲品?

飲品				
蛋白質濃度	g/100ml	g/100ml	g/100ml	g/100ml
未知樣本				

1. Coomassie blue 在實驗中的作用是甚麼？

2. 為甚麼使用移液槍時每個樣本都要使用新的槍頭？

3. 你的實驗結果與食物標籤中的蛋白質濃度是否相符？

4. 經過這次實驗後你會否多留意食物標籤？為什麼？

參考來源：

http://www.biodee.net/UploadFile/image/Up-2009-11-08_633933057160023750-35%20%E8%80%83%E9%A9%AC%E6%96%AF%E4%BA%AE%E8%93%9DG250.JPG

R→ http://www.russelllab.org/aas/other_images/Asp_Arg_saltbridge.gif

W→ <http://www.3dchem.com/imagesofmolecules/Tryptophan.jpg>

Y→ <http://www.3dchem.com/imagesofmolecules/Tyrosine.jpg>

H→ <http://www.3dchem.com/imagesofmolecules/Histidine.jpg>