

考马斯亮蓝法蛋白含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0781	考马斯亮蓝法蛋白含量检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体×1 瓶	4℃
标准品	500μg/mL×1 瓶: 临用前用蒸馏水稀释为 50μg/mL。	4℃

一、产品说明

样品可溶性蛋白质含量常常用于酶活性计算。此外,可溶性蛋白质含量也用于食品等质量分析。

在酸性溶液中,考马斯亮蓝 G-250 与蛋白质结合形成蓝色复合物;该复合物在 595nm 处有最大吸收峰,其颜色的深浅与蛋白质的浓度成正比。该方法灵敏度高,适合微量蛋白质分析。

二、自备材料

离心机、可见分光光度计、移液器、1mL玻璃比色皿和蒸馏水。

三、样本准备:

- 1、组织样品:按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织,加入 1mL 提取液(自备,根据需要选用酶提取缓冲液或者蒸馏水或者生理盐水)冰浴匀浆,8000g,4℃离心 10min,取上清,即待测液。(动物样品常常需要稀释)
- 2、细胞、细菌、真菌:按照细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为 500~1000: 1 的比例(建议 500 万细胞加入 1mL 提取液),冰浴超声波破碎细胞(功率 300w,超声 3 秒,间隔 7 秒,总时间 3min);然后 8000g,4℃,离心 10min,取上清置于冰上待测。
- 3、液体样品:澄清无色液体样品可以直接测定。

四、操作步骤

正式测定前,必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 595nm,蒸馏水调零。
- 2、空白管:取 1mL 玻璃比色皿,加入 200μL 蒸馏水,1000μL 试剂一,混匀后室温静置 10min,于 595nm 比色,10~20min 完成比色,记为 A 空白管。
- 3、标准管:取 1mL 玻璃比色皿,加入 200μL 标准液,1000μL 试剂一,混匀后室温静置 10min,于 595nm 比色,10~20min 完成比色,记为 A 标准管。
- 4、测定管:取 1mL 玻璃比色皿,加入 200μL 待测液,1000μL 试剂一,混匀后室温静置 10min,于 595nm 比色,10~20min 完成比色,记为 A 测定管。

五、计算公式

$C_{pr} (\mu\text{g/mL}) = 50 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$

C 标准管: 标准品蛋白质浓度, 50 $\mu\text{g/mL}$ 。

六、注意事项

- 1、空白管和标准管只需要测定一次。
- 2、加考马斯亮蓝后, 在 10~20min 内吸光值相对较稳定, 因此须在 10~20min 完成比色。
- 3、不宜用石英比色皿, 可用玻璃或塑料比色皿, 测完成后立即用 95%乙醇冲洗。
- 4、测定前用 1~2 个样做预实验, 确保蛋白浓度在 0~1000 $\mu\text{g/ml}$ 范围内, 否则需要做相应稀释, 使得稀释后的结果在 0~1000 $\mu\text{g/ml}$ 范围内, 然后再乘以稀释倍数。