

## 考马斯亮蓝法蛋白含量检测试剂盒（微量法）

（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
YFX0783	考马斯亮蓝法蛋白含量检测试剂盒	100 管/96 样

### 产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 25mL ×1 瓶	4°C
标准品	500µg/mL×1 瓶：临用前用蒸馏水稀释为 50µg/mL。	4°C

### 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

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、移液器和蒸馏水。

### 三、样本准备：

- 1、组织：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，10000rpm，4°C 离心 10min，取上清，即待测液。（动物样品常常需要稀释）
- 2、细胞或细菌：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 s，间隔 7s，总时间 3min）；然后 10000rpm，4°C，离心 10min，取上清置于冰上待测。
- 3、液体样本：澄清无色液体样品可以直接测定。

### 四、操作步骤

**测定前用 1~2 个样做预实验，确保蛋白浓度在 0~100µg/mL 范围内，否则需要做相应稀释。**

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，蒸馏水调零。
- 2、空白管：取 0.5 mL EP 管，加入 40µL 蒸馏水，250µL 试剂一，混匀后室温静置 10min，取 200µL 于微量玻璃比色皿/96 孔板，595nm 比色，10~20min 完成比色，记为 A 空白管。
- 3、标准管：取 0.5 mL EP 管，加入 40µL 标准液，250µL 试剂一，混匀后室温静置 10min，取 200µL 于微量玻璃比色皿/96 孔板，595nm 比色，10~20min 完成比色，记为 A 标准管。
- 4、测定管：取 0.5 mL EP 管，加入 40µL 待测液，250µL 试剂一，混匀后室温静置 10min，取 200µL 于微量玻璃比色皿/96 孔板，595nm 比色，10~20min 完成比色，记为 A 测定管。

## 五、蛋白质含量的计算

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

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

## 六、注意事项

- 1、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。
- 2、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。
- 3、测定前用 1~2 个样做预实验, 确保蛋白浓度在 0~100 $\mu\text{g/mL}$  范围内, 否则需要做相应稀释。