

## 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
YFX0782	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×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。