

Protein Content Assay Kit

蛋白含量测定试剂盒(考马斯亮蓝法) 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1783B	蛋白含量测定试剂盒(考马斯亮蓝法) 微板法	96T

产品简介:

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; 经光谱扫描, 该蓝色复合物在 600nm 处有最大吸收峰, 在一定的蛋白浓度范围 (1-1000 μ g/mL) 内, 其颜色的深浅与蛋白质的含量成正比。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	20mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C保存	
标准品	1mL \times 1 支	4 $^{\circ}$ C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

使用方法:

一、样本准备

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 (提取液可选用酶提取缓冲液、蒸馏水、生理盐水) 冰浴匀浆;
- (b) 12000rpm, 4 $^{\circ}$ C离心 10min, 取上清, 即待测液。

【注】: 依据研究经验, 一般需将样本粗提液稀释到适当倍数再进行测定, 如 10 倍。实验前可以先选 2 个样本测定, 摸索确定适合本次实验的稀释倍数。

2. 细胞/细菌样本:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- (c) 12000rpm 4 $^{\circ}$ C离心 10min, 取上清, 即待测液。

【注】: 依据研究经验, 一般需将样本粗提液稀释到适当倍数再进行测定, 如 10 倍。实验前可以先选 2 个样本测定, 摸索确定适合本次实验的稀释倍数。

3. 液体样本:

澄清无色液体样品可以直接测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

【注】: 依据研究经验, 一般需将样本粗提液稀释到适当倍数再进行测定, 如 10 倍。实验前可以先选 2 个样本测定, 摸索确定适合本次实验的稀释倍数。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30 min 以上, 设定波长为 600nm。
2. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	空白管(只做一次)
待测液	40	-
蒸馏水	-	40
试剂一	200	200

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



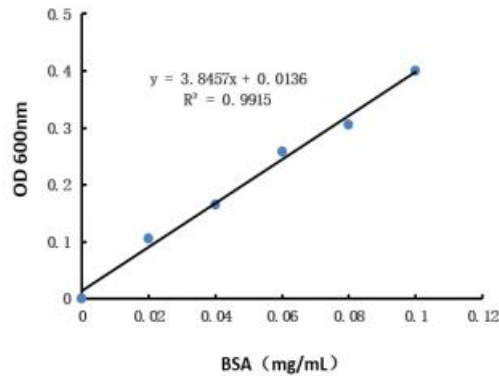
混匀，置于室温（25℃）静置 10min，600nm 处测定吸光值 A（5~15min 完成比色）， $\Delta A = A$ 测定管 - A 空白管。

【注】1. 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，即 ΔA 差值低于 0.3；稀释倍数 D 带入公式计算。

2. 去污剂、Triton X-100、十二烷基硫酸钠（SDS）和 0.1mol/L 的 NaOH 溶液对该实验会有影响。

三、结果计算

1. 标准曲线： $y = 3.8457x + 0.0136$ ；x 是标准品浓度（mg/mL），y 是 ΔA 。



2. 蛋白含量(mg/g 鲜重)=[$(\Delta A - 0.0136) \div 3.8457 \times V1$] $\div (W \times V1 \div V) \times D$
=0.26 $\times (\Delta A - 0.0136) \times D \div W$

3. 蛋白含量(mg/mL)=[$(\Delta A - 0.0136) \div 3.8457 \times V1$] $\div V1 \times D = 0.26 \times (\Delta A - 0.0136) \times D$

V---提取液体积：1mL

D---稀释倍数，未稀释即为 1

V1---加入粗提液体积：0.04mL

W---样本质量：g

附：标准曲线制作过程：

1. 标准品母液（0.5mg/mL）。
2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0，0.02，0.04，0.06，0.08，0.1. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4℃保存六个月。

