

Protein Content Assay Kit

蛋白含量试剂盒说明书（考马斯亮蓝法）

货号: BN73053 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、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。

二、试剂盒组成和配制:

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

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、离心机、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

四、蛋白含量检测:

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、样本制备:

① 组织样本:

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, 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 细菌或细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液; 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 12000rpm, 4 $^{\circ}$ C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【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。

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、上机检测:

① 酶标仪预热 30 min 以上, 设定波长为 600nm。

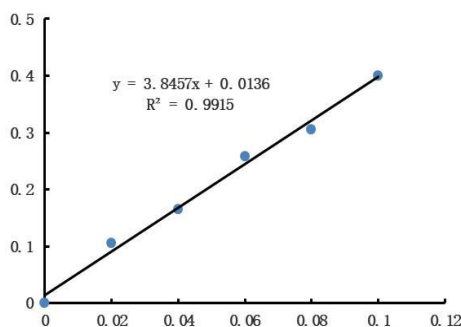
② 在 96 孔板中依次加入:

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

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、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 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

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；

V1---加入粗提液体积： 0.04mL；

W---样本质量： g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。