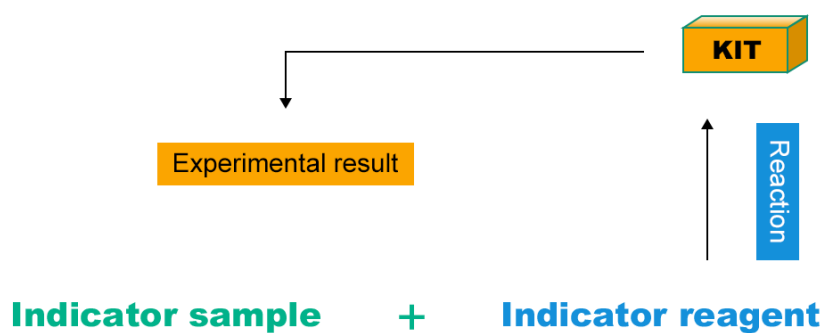


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0748

Size: 50T/48S

考马斯亮蓝法蛋白含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

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。

二、测定原理：

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。

三、需自备的仪器和用品：

离心机、可见分光光度计、移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体×1 瓶	4℃保存	
标准品	500 μg/mL×1 瓶	4℃保存	临用前用蒸馏水稀释为 50 μg/mL

五、样品中可溶性蛋白质提取

1. 液体样品：澄清无色液体样品可以直接测定。
2. 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）
3. 细菌、真菌：按照细胞数量 (10⁴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。

六、测定操作：

1. 分光光度计预热 30min，蒸馏水调零。
2. 空白管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 200 μ L 蒸馏水，1000 μ L 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 200 μ L 标准液，1000 μ L 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 200 μ L 待测液，1000 μ L 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。

注意：空白管和标准管只需要测定一次。

七、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 μ g/mL。

八、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 0~1000 μ 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 μ g/ml 范围内，然后再乘以稀释倍数。