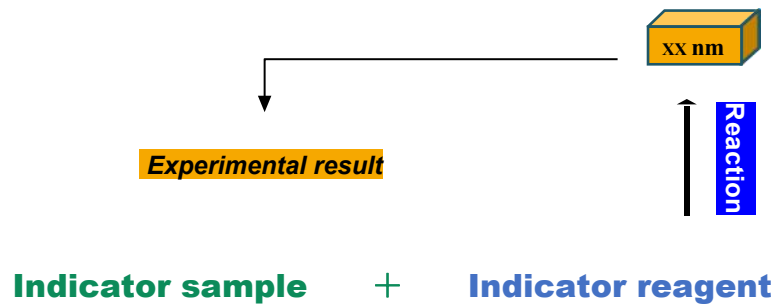


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 考马斯亮蓝法测蛋白含量测定试剂盒说明书 可见分光光度法

**注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。**

### 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。

### 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。

### 自备仪器和用品

离心机、可见分光光度计、移液器、1mL玻璃比色皿和蒸馏水。

### 试剂组成和配制

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

### 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( $10^4$ 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。

### 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 μL蒸馏水，1000 μL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 μL标准液，1000 μL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 μL待测液，1000 μL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。

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  $\mu\text{g/mL}$ 。

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 $\mu\text{g/ml}$  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。