Protein Content Assay Kit

蛋白含量试剂盒说明书（考马斯亮蓝法）

货号：G0417W48 |方法：微板法| 规格：48 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（1-1000μg/mL）内，其颜色的深浅与蛋白质的含量成正比。

二、测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃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℃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℃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：

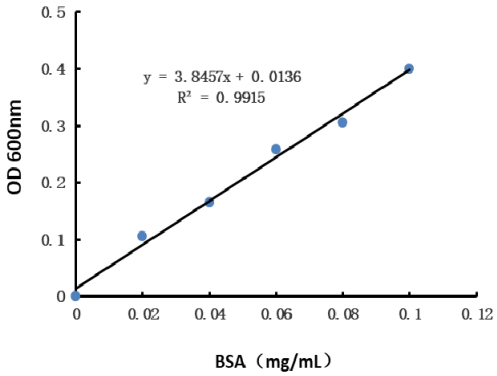
试剂名称（μL）	测定管	空白管(只做一次)
待测液	40	
蒸馏水		40
试剂一	200	200
混匀，,置于室温（25℃）静置 10min，600nm 处测定吸光值 A（5~15min 完成比色），△A= A 测定管-A 空白管。		

【注】：1.确保蛋白浓度在 0~100μg/ml 范围内，否则需要做相应稀释，即△A 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。

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△A。



2、蛋白含量(mg/g 鲜重)=[(△A-0.0136)÷3.8457×V1]÷(W×V1÷V)×D
=0.26×(△A-0.0136)×D÷W

3、蛋白含量(mg/mL)=[(△A-0.0136)÷3.8457×V1]÷V1×D=0.26×(△A-0.0136)×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。

附：标准曲线制作过程（标曲为非必做实验，可直接用试剂盒自带的标曲计算结果）：

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。