



即用型考染法蛋白定量试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100095

产品介绍

考马斯亮蓝蛋白定量法又称 Bradford 法，是最常用的蛋白质快速定量方法之一。考马斯亮蓝（Coomassie brilliant blue G-250）与蛋白质结合后染料的最大吸收峰由 465 nm 变为 595 nm，溶液的颜色由棕色变为蓝色，在 595 nm 波长下测定的吸光度值与蛋白含量成正比。灵敏度比 Lowry 法高 4 倍，与 BCA 法相当。反应迅速，2 min 达到平衡并在 1 h 内保持稳定。操作简便，只需要一种反应试剂。干扰物质少， K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、Tris、葡萄糖、蔗糖、甘油、巯基乙醇、 $(NH_4)_2SO_4$ 、乙醇、EDTA 等均不干扰此测定法。本试剂盒采用改良考染法和优化的试剂组成以及优化的测定方案，可对 0.5 ~ 1500 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围的蛋白进行线性检测，显著提高了蛋白检测灵敏度。本试剂盒含有一系列浓度的蛋白质标准品溶液（BSA 标准品），即取即用，无需稀释，方便快捷。

产品目录

产品名称	规格
即用型考染法蛋白定量试剂盒	2500 rxns

产品组成

组分	2500 rxns
考马斯亮蓝溶液	500 mL
BSA 标准品(1500 $\mu\text{g/mL}$)	1 mL
BSA 标准品(1250 $\mu\text{g/mL}$)	1 mL
BSA 标准品(1000 $\mu\text{g/mL}$)	1 mL
BSA 标准品(750 $\mu\text{g/mL}$)	1 mL
BSA 标准品(500 $\mu\text{g/mL}$)	1 mL
BSA 标准品(250 $\mu\text{g/mL}$)	1 mL
BSA 标准品(125 $\mu\text{g/mL}$)	1 mL
BSA 标准品(0 $\mu\text{g/mL}$)	1 mL

产品用途

用于考马斯亮蓝法的蛋白定量检测。

产品特点

1. 方便快捷：提供一系列 BSA 标准品，即取即用，无需稀释
2. 不受大部分金属离子或螯合剂影响。

注意事项

1. 分别在 595 nm 和 450 nm 测定 OD 值，计算 OD_{595}/OD_{450} ，以此代替原有的 OD_{595} 作图，可明显提高检测的精确度和灵敏度约 10 倍，显著提高测定的线性关系，并降低去垢剂的影响。在进行低浓度蛋白定量时可考虑此法；
2. 主要干扰物质的终浓度：SDS < 0.002%；Triton X-100 < 0.1%；Tween-20/60/80 < 0.015%；NaOH < 0.1 N；
3. 蛋白-染料结合物在 1 h 内保持稳定，但在 5 ~ 20 min 内稳定性最好，因此应尽快测定。如果放置过久将出现沉淀，或使测定结果偏低；
4. 染料不结合精氨酸、赖氨酸及分子量小于 3 kDa 的短肽，所以不同的蛋白质由于精氨酸和赖氨酸含量不同会出现小范围的测量偏差；小于 3 kDa 的短肽纯品不能用此方法测定；



5. 蛋白-染料结合物附着在石英比色皿后难以洗去，因此不宜使用石英比色皿。可用玻璃或塑料比色皿，用后立即用 95%乙醇或洗涤剂浸泡洗涤。塑料比色皿不可用乙醇长时间浸泡；

6. 标准曲线应该每次新做。但每一稀释度的 BSA 标准品可预先配好-20℃冻存储备用，注意在使用这种非新鲜配制的 BSA 时，如果发现标准曲线的某一些点偏差较大，说明稀释的 BSA 变质，需重新配制。

操作步骤

1. 所需设备：比色计、酶标仪或微板比色仪，工作波长为 $595\text{ nm} \pm 5\text{ nm}$ ；

2. 工作染液准备：染料工作液在 4℃避光保存 12 个月，放置后如由茶色变蓝色可再次过滤。加入反应管前应升到室温，直接使用 4℃工作液不影响精度但测得的 OD 值较低；

3. 微量测量：

①. 分别取 BSA 标准品各 5 μL 加到 96 孔板中；

②. 将样品适当稀释（可以多作几个梯度，如 2 倍、4 倍、8 倍稀释），加 5 μL 到 96 孔板的样品孔中；

③. 各孔加入 300 μL 显色工作液，充分混匀，盖上 96 孔板盖，室温孵育 3 ~ 5 min；

④. 用酶标仪测定每个样品及 BSA 标准品的 OD_{595} 值，注意要减去空白对照（0 $\mu\text{g/mL}$ BSA 标准品+工作液）的吸光度；

⑤. 绘制标准曲线，X 轴为 BSA 蛋白标准品（ mg/mL 或 $\mu\text{g/mL}$ ），Y 轴为各标准管对应的 OD_{595} 值，拟合曲线（eg. Excel 工具）并计算蛋白浓度。

注意：数据处理时需要去除明显错误的值。待测样品浓度可以从标准曲线中查得，实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。如果是计算机绘制的曲线，可以从计算机给出的线性方程式计算出待测样品的浓度。

4. 标准测量：

①. 分别取 BSA 标准品各 120 μL 加到干净试管中；

②. 将样品适当稀释（可以多作几个梯度，如 2 倍、4 倍、8 倍稀释），加 120 μL 到干净试管中；

③. 各试管加入 2000 μL 显色工作液，充分混匀，室温孵育 3 ~ 5 min，将溶液分别加入 1 cm 光径的比色皿；

④. 用酶标仪测定每个样品及 BSA 标准品的 OD_{595} 值，注意要减去空白对照（0 $\mu\text{g/mL}$ BSA 标准品+工作液）的吸光度；

⑤. 绘制标准曲线，X 轴为 BSA 蛋白标准品（ mg/mL 或 $\mu\text{g/mL}$ ），Y 轴为各标准管对应的 OD_{595} 值，拟合曲线（eg. Excel 工具）并计算蛋白浓度。

注意：数据处理时需要去除明显错误的值。待测样品浓度可以从标准曲线中查得，实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。如果是计算机绘制的曲线，可以从计算机给出的线性方程式计算出待测样品的浓度。

储存及运输条件

考染法蛋白定量试剂盒置于 2 ~ 8℃储存，有效期 12 个月，2 ~ 8℃运输。

BSA 标准品置于 -25 ~ -15℃储存，有效期 12 个月，2 ~ 8℃运输。