

考马斯亮蓝 G250 染料试剂说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

Bradford 法是常用的蛋白浓度检测的方法，与传统方法相比，更简单、更稳定、兼容性更好。Bradford 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响。样品中 β -巯基乙醇的浓度可高达 1M，DTT 的浓度可高达 5mM。但受高浓度的去垢剂的影响明显，故在用 Bradford Protein Assay Kit 进行蛋白定量时，需确保 SDS 低于 0.01%，Triton X-100 低于 0.05%，Tween 20, 60, 80 低于 0.015%，含高浓度去垢剂的蛋白定量，建议采用 BCA Protein Assay Kit。

考马斯亮蓝 G250 染料试剂由考马斯亮蓝 G250、乙醇、磷酸组成，用于考马斯染料结合 (Bradford) 分析的总蛋白测量，其特点在于对蛋白样品中可能存在的大多数盐、溶剂、缓冲液、硫醇、金属螯合剂、还原性物质等均不排斥。检测浓度下限达到 $25 \mu\text{g/ml}$ ，最小检测蛋白量达到 $0.5 \mu\text{g}$ ，待测样品体积为 $1\sim 20 \mu\text{l}$ ，在 $50\sim 1000 \mu\text{g/ml}$ 浓度范围内有较好的线性关系。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
考马斯亮蓝 G250 染料试剂	100ml/500ml	RT	1 份	1 年

自备材料：

- 1、酶标仪或分光光度计
- 2、蒸馏水
- 3、96 孔板或比色杯

操作步骤(仅供参考)：

- 1、稀释蛋白标准(一般为 BSA 5mg/ml)使其终浓度为 0.5mg/ml。注意：蛋白样品在什么溶液中，蛋白标准也应用什么溶液稀释，也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 稀释蛋白标准。
- 2、将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μl 加到 96 孔板的蛋白标准孔中，加蛋白标准稀释液补足至 20 μl 。
- 3、加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中，补加标准品稀释液至 20 μl 。
- 4、各孔加入 200 μl 考马斯亮蓝 G250 染料试剂，室温放置 3~5min。
- 5、酶标仪测定 595nm 波长处的吸光值，560~610nm 之间的波长也可。
- 6、根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

注意事项：

- 1、待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准也应溶解于什么样的稀释液中，否则待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致，有可能导致测定不准确。
- 2、需可检测 560~610nm 之间波长的酶标仪一台，最佳检测波长为 595nm。
- 3、建议每次测定时都做标准曲线。因为测定时颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应的速度和温度有关，所以除非精确控制显色反应的时间和温度，否则如需精确测定应每次都做标准曲线。
- 4、如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但测定时，考虑根据比色皿的最小检测体积。应按比例适当加大考马斯亮蓝 G250 染料试剂的用量使总体积不小于最小检测体积，样品和标准品的用量亦相应按比例放大。使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

Tris-MOPS-SDS 电泳粉剂(1×)
Tris-MOPS-SDS 电泳缓冲液(20×, pH8.3)
Tris-Tricine 阳极缓冲液(5×, pH8.9)
Tris-Tricine 阴极缓冲液(5×)
Tris-甘氨酸电泳粉剂(1×)
Tris-甘氨酸电泳粉剂(5×)
Tris-甘氨酸电泳缓冲液(1×)
Tris-甘氨酸电泳缓冲液(10×)