



## 考马斯亮蓝 G250 染料试剂

### 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  $\beta$ -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%, 含高浓度去污剂的蛋白定量, 建议采用 BCA Protein Assay Kit。

NOVON 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:

名称	SS0895	保存条件
考马斯亮蓝 G250 染料试剂	100ml	RT 避光
说明书	1 份	

### 自备材料:

- 1、酶标仪或分光光度计
- 2、蒸馏水
- 3、96 孔板

### 操作步骤(仅供参考):

- 1、稀释蛋白标准(一般为 BSA  $5\text{mg/ml}$ )使其终浓度为  $0.5\text{mg/ml}$ 。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,  $20 \mu\text{l}$  加到 96 孔板的蛋白标准孔中, 加蛋白标准稀释液补足至  $20 \mu\text{l}$ 。
- 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  $20 \mu\text{l}$ 。
- 4、各孔加入  $200 \mu\text{l}$  考马斯亮蓝 G250 染料试剂, 室温放置  $3\sim 5\text{min}$ 。
- 5、酶标仪测定 595nm 波长处的吸光值,  $560\sim 610\text{nm}$  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  $560\sim 610\text{nm}$  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。

**有效期：** 3 个月有效。