

## 5×考马斯亮蓝 G-250（蛋白定量用）

产品货号：R21944

产品规格：100ml/500ml

### 产品简介：

考马斯亮蓝 G-250 染料，在酸性溶液中与蛋白质结合，使染料的最大吸收峰的位置（ $\lambda_{max}$ ），由 465nm 变为 595nm，在一定的浓度范围内，测定的吸光度值  $A_{595}$  与蛋白质浓度成正比。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，样品中巯基乙醇的浓度可高达 1M，二硫苏糖醇的浓度可高达 5mM，但受略高浓度的去垢剂影响，需确保 SDS 的浓度低于 0.1%，Triton X-100 低于 0.1%，Tween 20, 60, 80 低于 0.06%。含去垢剂的样品推荐使用尚宝生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒。

### 产品组成：

产品名称	规格	储存条件
5×考马斯亮蓝 G-250（蛋白定量用）	100ml/500ml	室温

### 自备试剂：

PBS、BSA 标准品(5mg/ml)

### 操作步骤：

#### 一. 微孔酶标仪法

1. 完全溶解蛋白标准品，取 10ul，稀释至 250ul，使终浓度为 0.2mg/ml。待测蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 稀释标准品。
2. 5×G250 染色液使用前请颠倒 3-5 次混匀，取 1ml 5×G250 染色液，加入 4ml 双蒸水，混匀成 1×G250 染色液，此 1×G250 染色液可在 4℃保存一周。
3. 将标准品按 0,2,4,6,8,12,16,20 微升分别加到 96 孔板中，加 PBS 稀释液补足到 20 微升。
4. 将样品作适当稀释（最好多做几个梯度，如作 2 倍、4 倍、8 倍稀释），加 20 微升到 96 孔板的样品孔中。由于移液器在取少量时的误差，标准线前面的点可能不很准确，所以尽可能的让样品点落在标准线 1/2 后。
5. 各孔加入 200 微升稀释后的 1×G250 染色液，室温放置 3-5 分钟。
6. 用酶标仪测定  $A_{595}$ ，或 560-610nm 之间的其它波长的吸光度。
7. 根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

#### 二. 分光光度计法

如无酶标仪，染色反应可在离心管中进行，反应液混匀后加入比色皿中，使用分光光度计测定吸光值。

步骤如下：

1. 取八支（或者更多）干净的 10ml 离心管，标记上号。
2. 取 100ulBSA 加入 PBS 2.4ml 稀释至终浓度为 0.2mg/ml。
3. 5×G250 染色液使用前请颠倒 3-5 次混匀，取 10ml 5×G250 染色液，加入 40ml 双蒸水，混匀成 1×G250 染色液，此 1×G250 染色液可在 4℃保存一周。
4. 按下表加入试剂(以每孔 5ml 计，多余的用来清洗比色皿)



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

离心管号	1	2	3	4	5	6	7 (样品管 1)	8 (样品管 2)	9 (样品管 3)
标准蛋白 BSA	0 $\mu$ L	100 $\mu$ L	200 $\mu$ L	300 $\mu$ L	400 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L 适当稀释的样品 1	500 $\mu$ L 适当稀释的样品 2	.....
PBS	500 $\mu$ L	400 $\mu$ L	300 $\mu$ L	200 $\mu$ L	100 $\mu$ L	0 $\mu$ L	0 $\mu$ L	0 $\mu$ L	0 $\mu$ L
1 $\times$ G250 染色液	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL

5. 反应 3 分钟后测 OD 值。为了实验的准确性，可每间隔 2 分钟加一管染色液，每间隔 2 分钟测一管 OD 值。如下表：

离心管号	1	2	3	4	5	6	7	8	.....
加染色液 (分钟)	0	2	4	6	8	10	12	14	.....
测 OD 值	3	5	7	9	11	13	15	17	.....



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>