

## 可溶性蛋白含量检测试剂盒（考马斯亮蓝法）试剂盒说明书

货号：RX869W48      规格：48 样      方法：酶标仪法

### 一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本上清进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。
4. 试剂一使用前请充分摇匀。
5. 样品制备好后请置于冰上待测。

### 二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	6 mL×1	4°C避光	

### 三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰。

### 四、样品制备

样品中可溶性蛋白质提取：

1. 液体样品：澄清液体样品可以直接测定。
2. 组织样品：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：20 的比例（建议称取约 0.05 g~0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液（自备，根据需要选用酶提取缓冲液/蒸馏水/生理盐水）冰浴匀浆，10000g，4°C离心 10 min，上清为待测样本。

（动物样品常常需要稀释）

3. 细菌、真菌：按照细胞数量（ $10^4$  个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率/300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3 min）；然后 10000g，4°C，离心 10 min，取上清置于冰上待测。

### 五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 620 nm 处。
2. 在 96 孔板中依次加入：

注意：正式实验开始前，取 2~3 个预期差异较大的样品上清液进行显色预实验，动植物样本需对上清进行稀释，通常需要稀释 10~30 倍，直至其显色完成后吸光度值<0.7。

	测定管	空白管
样本 (μL)	100	-
蒸馏水 (μL)	-	100
试剂一 (μL)	100	100

充分混匀后，室温放置 2 min，于 620 nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管只需要测定 2~3 次。

## 六、计算：

### 1.标准方程

标准条件下测得回归方程为  $y = 7.7666x + 0.0051$ ， $R^2 = 0.9996$ ，x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值 A。

2.按液体样本体积计算： $C_{pr} \text{ (mg/mL)} = (\Delta A - 0.0051) \div 7.7666 \times F$

3.按组织样本质量计算： $C_{pr} \text{ (mg/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0051) \div 7.7666 \times V_{\text{总}} \div W \times F$   
 $= 0.1288 \times (\Delta A - 0.0051) \div W \times F$

$V_{\text{总}}$ ：提取液体积，1 mL;  $W$ ：样本质量，g;  $F$ ：稀释倍数。

## 七、产品简介

当植物遭遇干旱、盐碱等渗透胁迫时，细胞内会积累特定的可溶性蛋白，这些蛋白本身具有良好的亲水性和溶解性，能帮助细胞保持水分，稳定细胞结构，防止细胞因失水而受损。