总蛋白含量检测试剂盒说明书（考马斯亮蓝法）

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.使用前请先通读一遍说明书。

2.正式检测前选取 2~3 个样本上清液进行显色预检测。

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	12 mL×1	4℃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，10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。（动植物样品常常需要稀释）

3. 细菌/细胞样品：按照细菌/细胞样品数量（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），冰浴超声波破碎细菌/细胞样品（功率/300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3 min）；然后 10000g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

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，ΔA=A 测定-A 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：总蛋白含量（mg/mL）=(ΔA-0.0051)÷7.7666×F

3.按组织样本质量计算：总蛋白含量（mg/g 鲜重）=(ΔA-0.0051)÷7.7666×V 总÷W×F=0.1288×(ΔA-0.0051)÷W×F

4.按照细菌/细胞计算：总蛋白含量（mg/10^4 cell）=(ΔA-0.0051)÷7.7666×V 总÷W×F=0.1288×(ΔA-0.0051)÷细菌/细胞数量（万个）×F

V 总：提取液体积，1 mL; W：样本质量，g；F：稀释倍数。

七、产品简介

总蛋白综合反映动物蛋白营养储备、肝脏合成功能、体液渗透压、机体免疫水平、蛋白丢失 / 消耗类疾病，是动物生理生化检测中最基础、覆盖面最广的综合评判指标。