

考马斯亮蓝法测蛋白浓度

细胞蛋白提取：

往 15ml 离心管内加入 1ml 细胞裂解液，充分混旋溶解后，转移至 1.5ml EP 管→ 12000rpm, 3min 离心，每组各取上清液 300 μ l 于 EP 管中，待用。（注意：不要取到沉淀；离心机用前样品需要配平，启动前需盖上盖子）。

蛋白质浓度测定：

每组取上清液 20 μ l 于 EP 管中，加生理盐水 780 μ l（稀释 40 倍），考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。（注意： 每组将剩余上清液交给老师，保存于-20℃，用于下次 SDS-PAGE 电泳及 WB 实验。）

考马斯亮蓝法测定蛋白质含量：

取六个 10cm 的玻璃试管，用记号笔在每个管上做好标记，按照下表所示，加入相应的试剂：

试剂	标准管 1	标准管 2	标准管 3	标准管 4	空白管	测定管
蛋白含量 (μ g/ml)	250	125	62.5	31.25	0	未知
标准/稀释样品 (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	---	0.1
生理盐水 (ml)	---	---	---	---	0.1	---
考马斯亮蓝染液 (ml)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

所有标准做复管，空白及测定管不做复管，充分混匀后，室温放置 3 分钟。每组同学每管取 200 μ l 以行为单位顺序加入加入 96 孔培养板中。用酶标仪，读取 OD630 值。以空白管调零，计算出相应蛋白的浓度。