

考马斯亮蓝 G250

产品信息

产品名称	编号	规格
考马斯亮蓝 G250	DY40111	10g/25g

产品描述

考马斯亮蓝 G250(Coomassie Brilliant Blue G250)是考马斯染料家族的成员之一,属于三苯甲烷类染料。考马斯亮蓝 G250 的染色原理为:通过与蛋白质内的氨基和羧基团间的作用力,考马斯亮蓝与蛋白质形成强但非共价键连接的复合物。蛋白-染料复合物的形成稳定染料携带的负电荷阴离子(如磺酸基),从而产生在膜上或者胶上肉眼可见的蓝色。考马斯亮蓝有 G250 和 R250 两种,“G”为 Green, G250 指具有淡绿色调的蓝色染料,“R”为 Red, R250 染料泛微红色调。考马斯亮蓝 G250 较多的用于溶液体系中蛋白的定量分析,考马斯亮蓝 R250 更多用于聚丙烯酰胺凝胶电泳后蛋白质条带的染色。

考马斯亮蓝 G250 用于 Bradford 法进行蛋白浓度测定,该方法灵敏度比 Lowry 法高,可测定微克级蛋白质含量,是一种常用的微量蛋白质快速测定方法。此法原理是酸化的 G250 溶液(也就是 Bradford 试剂)为阳离子、双质子化形式,溶液为红色,最大吸收波长(Amax)为 470nm,当与蛋白质稳定结合后, G250 变为阳离子、非质子化形式,溶液变为蓝色, Amax 为 595nm。蓝色形式染料的量与样本中蛋白的量成正比,因此 595nm 的吸光度可反映蛋白量。此法反应时间短,结合的 G250-蛋白质复合物室温下稳定保持 1h,反应灵敏度也很高。

考马斯亮蓝 G250 的用于蛋白质染色时检测灵敏度虽然比 R250 低,但也可替代 R250。因其在低于 pH 2.0 时,溶液无色, pH 7.0 时溶液呈深蓝黑色;若发生酸化,溶液呈现透明的棕褐色。当 G250 与蛋白结合,溶液又回到蓝色,主要因为蛋白分子溶液偏中性的 pH 环境。合适条件下,当把胶放在酸化的 G250 溶液中染色,显示出蓝色的蛋白条带,背景呈浅琥珀色。此种方法条带快速显色,且背景颜色也很浅使得条带看起来很清楚,则不需要做褪色处理。大部分蛋白用 G250 检测的下限是 0.5μg。虽然灵敏度降低,但是操作快速且方便,比 R250 染色节省时间约 11 h。

保存方式

常温保存。

产品性质

别名: 酸性蓝 90, 亮蓝, 考马斯亮蓝 G, 康美赛蓝 G250, Brilliant Blue G, Acid Blue 90, Coomassie Brilliant Blue G, CBBG

性状: 蓝色至深紫色粉末

CAS: 6104-58-1

分子式: C₄₇H₄₈N₃O₇S₂Na;

分子量: 854.02

溶解性: 溶于热水(50mg/mL), 微溶于冷水, 乙醇(40mg/mL), 甲醇, 10%三氯乙酸

纯度: ≥90%

使用方法

凝胶染色方法

1) 考马斯亮蓝 G250 染色液的配制

将 0.2g G250 溶于 100ml 水中(需要加热至 50°C 促进溶解)。冷却后, 加入 100ml 1M 的硫酸。室温放置 3h, 最长可过夜, 然后滤纸除杂。过滤后的溶液, 小心加入 22.2ml 10M 的 KOH, 然后加入 28.7g 三氯乙酸(TCA)。混匀后室温放置> 3h, 再过滤除杂从而获得琥珀般的棕色溶液, 不含蓝色沉淀。

2) 染色只需将胶完全浸在此染色液中, 约 15 min 后条带就会显示出来。几小时后染色条带的亮度和灵敏度会进一步加强。

3) 染色液室温约稳定存放 2-3 周。

Bradford 法测蛋白浓度测定

1) 染液的配制

将 100mg 的 G250 溶解于 50mL 95%的乙醇中, 加入 85%(w/V)的磷酸 100mL, 加水定容至 1L。

2) 标准曲线的绘制

在 7 个试管中分别加入含 0、10、20、30、40、50、60ug 标准蛋白质溶液, 用水补足到 60ul, 加 3mL 染色液, 混匀后室温放置 15 分钟, 至 595nm 处比色测定。以蛋白质含量为横坐标, A595 的值为纵坐标绘制标准曲线。

3) 测定

取未知浓度的样品 60ul, 同上测定, 从标准曲线上查出相应的含量。

该方法反应快、操作简便、消耗样品少, 但不同蛋白质间的差异大, 标准曲线的线性不好, 显色受时间和温度影响较大。考马斯亮蓝染色能力强, 特别要注意比色杯的清洗。较高浓度的去污剂(Triton X-100, SDS 等)、尿素和硫酸铵对测定有干扰。

本产品仅作科研用途