

Bradford 蛋白定量试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法是：BCA 蛋白定量试剂盒(BCA Protein Assay Kit)和 Bradford 蛋白定量试剂盒(Bradford Protein Assay Kit)。Bradford 法与传统方法

相比，更简单、更稳定、兼容性更好。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 β -巯基乙醇的浓度高达 1M，DTT 的浓度高达 5mM。但本法受高浓度去垢剂的影响明显，故在用 Bradford Protein Assay Kit 进行蛋白定量时，需确保 SDS 低于 0.01%，Triton X-100 低于 0.05%，Tween 20/60/80 低于 0.015%。含高浓度去污剂的蛋白定量，建议采用 BCA Protein Assay Kit。

Bradford 蛋白定量试剂盒 Bradford Protein Assay Kit 检测原理是在酸性乙醇溶液中，考马斯亮蓝 G250 与蛋白结合颜色由棕色变为蓝色，在 595nm 有最大吸收值，检测速度很快，少量样品一般只需 10min 即可完成检测。检测浓度下限达到 25 μ g/ml，最小检测蛋白量达到 0.5 μ g，待测样品体积为 1~20 μ l。在 50~1000 μ g/ml 浓度范围内有较好的线性关系。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
Bradford 蛋白定量试剂盒	500T/1000T/2500T	-20℃	1 份	1 年
试剂(A): G250 染色液	100ml/200ml/500ml	RT	1 份	1 年
试剂(B): 蛋白标准(BSA)	20mg/20mg/20mg	RT	1 份	1 年
试剂(C): 蛋白标准配制液	5ml/10ml/10ml	RT	1 份	1 年

自备材料：

- 1、酶标仪或分光光度计
- 2、96 孔板或比色杯
- 3、蒸馏水

操作步骤(仅供参考)：

1、取 1ml 蛋白标准配制液完全加入到含有 20mg 的蛋白标准(BSA)中，充分溶解，后配制成 20mg/ml 的蛋白标准溶液，配制后可立即使用，配制的蛋白标准溶液应-20℃保存。2、取适量的 20mg/ml 蛋白标准，用蛋白标准稀释液稀释至终浓度为 500 μ g/ml 或所需浓度。如取 25 μ l 20mg/ml 蛋白标准，加入 975 μ l 蛋白标准稀释液，充分混匀，即配制成 500 μ g/ml 蛋白标准溶液。特别提示：待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准

也宜溶解于什么样的稀释液中，例如待测蛋白溶解于蔗糖中，亦取 20mg/ml 蛋白标准溶解于蔗糖中。一般也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 作为溶解 BSA 稀释液，稀释后的 500 μ g/ml 蛋白标准溶液也应-20℃长期保存。

- 3、将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μ l 加到 96 孔板或 EP 管中，加蛋白标准稀释液补足至 20 μ l。
- 4、加适当体积样品到 96 孔板或 EP 管中，补蛋白标准稀释液至 20 μ l。
- 5、各孔加入 200 μ l G250 染色液，室温放置 3~5min。
- 6、酶标仪或分光光度计测定 595nm 波长处的吸光度，560~610nm 之间的波长也可，根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

注意事项：

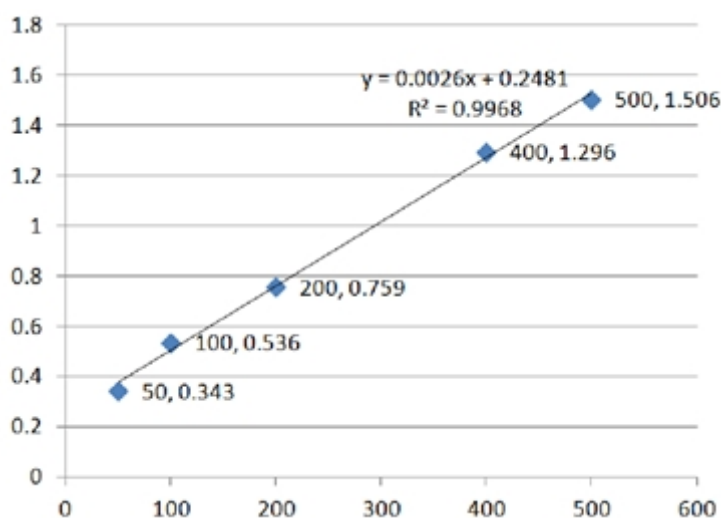
- 1、G250 染色液回复至室温充分混匀后使用，有利于提高检测的灵敏度。加完 G250 染色液后，尽量在 30min 内完成吸光度的测定，防止沉淀形成后影响实验结果。
- 2、蛋白标准在全部溶解后先混匀，再稀释成一系列不同浓度的蛋白标准。
- 3、待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准也应溶解于什么样的稀释液中，否则待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致，有可能导致测定不准确。
- 4、建议每次测定时都做标准曲线。因为测定时颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应的速度和温度有关，所以除非精确控制显色反应的时间和温度，否则如需精确测定应每次都做标准曲线。
- 5、没有酶标仪，也可使用分光光度计测定，但应考虑比色杯的最小检测体积，需按比例适当加大 G250 染色液、样品和标准品的用量使总体积不小于最小检测体积。使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
- 6、用比色杯测定蛋白含量时，由于考马斯亮蓝易结合石英比色杯，应优先选用一次性塑料比色杯，如用玻璃比色杯，比色完毕应立即用乙醇清洗干净。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

附录：

标准曲线制作：在室温条件下，按说明书操作，对系列标准进行吸光度的测定，其数值及标准曲线如下(仅供参考)，我们建议采用 50、100、200、300、400、500 μ g/ml 的蛋白标准绘制标准曲线(标准品浓度过高或过低都有可能影响标准曲线的准确性)：

蛋白标准(μ g/ml)	25	50	100	200	300	400	500
吸光度	0.191	0.343	0.536	0.759	1.120	1.296	1.506

注意：对于 10-50 μ g/ml 范围内的蛋白样品，要充分考虑如 SDS、Tween、Triton 等干扰因素，其检测结果波动较大，标准品亦有波动，请注意小心精细操作。



(注：蛋白标准在 25 和 300ug/ml 时吸光度偏差较大应舍弃。)

相关产品：

Acr-Bis (40%, 29_1)
Acr-Bis (40%, 37.5_1)
Acr-Bis (40%, 37_1)
Acr-Bis (40%, 38.4%_1.6%)
Acr-Bis (40%, 39_1)
Acr-Bis (40%, 49_1)
Acr-Bis (40%_2%)
Acr-Bis (45%, 43.4_1.6)
Acr-Bis 粉剂 (40%, 19_1)