

Bradford 蛋白定量试剂盒

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(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%, TritonX-100 低于 0.05%, Tween20/60/80 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 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。该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称 \ 编号	ADS002T0	ADS002T1	ADS002T2	Storage
	500T	1000T	2500T	
试剂(A):G250 染色液	100ml	200ml	500ml	RT
试剂(B):蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	RT
试剂(C):蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	RT
使用说明书	1 份			

自备材料

- 1、酶标仪或分光光度计、96 孔板或比色杯、电子天平、研钵或匀浆器、离心机、离心管
- 2、蒸馏水、0.9%NaCl 或 PBS

操作步骤(仅供参考)

- 1、样品蛋白质的提取称取新鲜绿豆芽下胚轴(或小麦叶片)0.5~1.0g 放入研钵中, 加 2mL 蒸馏水研磨成匀浆, 转移到离心管中, 再用 6mL 蒸馏水分次洗涤研钵, 洗涤液收集于同离

心管中，在室温(20~25℃)下放置 0.5~1h 以充分提取，然后 4000r/min 离心 20min 去沉淀，上清液转入 10mL 容量瓶，以蒸馏水定容至刻度，即得待测样品提取液。

- 2、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。
- 3、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 500μg/ml 或所需浓度，如取 25μl 20mg/ml 蛋白标准，加入 975μl 蛋白标准稀释液，充分混匀，即配制成 500μg/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 500μg/ml 蛋白标准溶液也应-20℃长期保存。
- 4、将标准品按 0,1,2,4,8,12,16,20μl 加到 96 孔板或 EP 管中，加蛋白标准稀释液补足至 20μl。
- 5、加适当体积样品到 96 孔板或 EP 管中，补蛋白标准稀释液至 20μl。
- 6、各孔加入 200μl G250 染色液，室温放置 3~5min。
- 7、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。

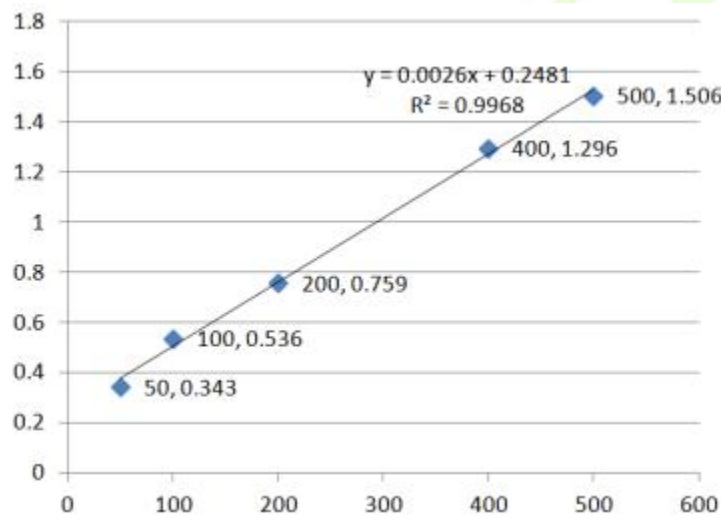
有效期：12 个月有效，蛋白标准配制成溶液后应-20℃冻存。

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 $\mu\text{g/ml}$ 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($\mu\text{g/ml}$)	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 $\mu\text{g/ml}$ 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 300 $\mu\text{g/ml}$ 时吸光度偏差较大应舍弃)