

## Bradford 法蛋白定量试剂盒

### 简介:

目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法是: BCA 蛋白浓度测定试剂盒(BCA Protein Assay Kit)和 Bradford 法蛋白定量试剂盒(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 $\beta$ -巯基乙醇的浓度可高达 1M, DTT 的浓度可高达 5mM。但受高浓度的去垢剂的影响, 故在用 Bradford Protein Assay Kit 进行蛋白定量的时候, 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。

BIOISCO Bradford Protein Assay Kit 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 $\mu$ g/ml, 最小检测蛋白量达到 0.5 $\mu$ g, 待测样品体积为 1~20 $\mu$ l。在 50~1000 $\mu$ g/ml 浓度范围内有较好的线性关系。

### 组成:

产品名称	规格 500T	规格 1000T	规格 2500T	Storage
试剂(A): G250 染色液	100ml	200ml	500ml	4°C避光
试剂(B): 蛋白标准(BSA 5mg/ml)	1ml	2ml	5ml	-20°C
说明书			一份	

**主要成分:** 试剂(A): 主要由 G250、缓冲液等组成。试剂(B): 主要由牛血清白蛋白 (BSA)、防腐剂等组成。

### 自备材料:

- 1、酶标仪或分光光度计
- 2、微量移液器
- 3、双蒸水
- 4、96 孔板

### 操作步骤(仅供参考):

- 1、完全溶解蛋白标准(BSA 5mg/ml), 按蛋白标准:稀释液=1:9 进行稀释, 如取蛋白标准 10 $\mu$ l 稀释溶解于稀释液 90 $\mu$ l, 使终浓度为 0.5mg/ml。注意, 蛋白样品在什么溶液中, 蛋白标准也宜用什么溶液稀释。也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 稀释蛋白标准(BSA 5mg/ml)。
- 2、将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 $\mu$ l 加到 96 孔板的蛋白标准孔, 加蛋白标准稀释液补足到 20 $\mu$ l。
- 3、加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中, 补加标准品稀释液到 20 $\mu$ l。
- 4、各孔加入 200 $\mu$ l G250 染色液, 室温放置 3~5min。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



5、用酶标仪测定 A595, 或 560~610nm 之间的其它波长的吸光度。

6、根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

**注意事项：**

1. G250 染色液使用前充分混匀。
2. G250 染色液回复至室温再使用，有利于提高检测的灵敏度。
3. 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。
4. 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，否者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。
5. 需可检测 560~610nm 之间波长的酶标仪一台，最佳检测波长为 595nm，并需 96孔板。
6. 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，否则如需精确测定宜每次都做标准曲线。
7. 如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但测定时，考虑根据比色皿的最小检测体积。应按比例适当加大BCA 工作液的用量使总体积不小于最小检测体积，样品和标准品的用量亦相应按比例放大。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。
8. 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。

