

Bradford 法蛋白定量测定试剂盒

Bradford Protein Assay Kit

产品编号： **BN27183**

产品信息：

编号	组分	产品规格		储存
		250T	1000T	
BN27183-1	Bradford 蛋白染色液	50ml	200ml	4°C
BN27183-2	蛋白标准品	1ml(5mg/ml)	2*1ml(5mg/ml)	-20°C

本试剂盒有效期为一年

产品简介：

Bradford 蛋白浓度测定法是目前常用的灵敏度较高的蛋白浓度测定方法之一，其实验原理是根据考马斯亮蓝(Coomassie Brilliant Blue)G-250 与蛋白质的碱性和芳香族氨基酸特别是精氨酸 (Arginine) 在酸性介质中结合后，溶液转变为蓝色，使染料的最大吸收峰从 465nm 迁移到 595nm，且测定的吸光值与蛋白浓度成正相关关系；即可通过测定蛋白在 595nm 处的吸光度，推算蛋白浓度，进而进行定量测定。

本法通过吸光值，推算蛋白浓度，实现了蛋白浓度测定的快速性和简便性。灵敏度高，比 Lowry 法大约高四倍，测定速度快、简单，仅需一种试剂即可，且不受大多数样品中化学试剂的影响。

注意事项：

1. Bradford 染色液使用前，需将其恢复至室温，有利于提高检测的灵敏度；并在使用前充分混匀
2. 标准曲线也有轻微的非线性，因而不能用 Beer 定律进行计算，而只能用标准曲线来测定未知蛋白质的浓度；为了得到更精确的结果，每个蛋白梯度和样品均需做复孔，每次试验都必须建立标准曲线
3. Bradford 法测定蛋白浓度对大多数化学物质的兼容性比较好，比如对还原剂 DTT 的兼容性高达 5mM；但会受到略高浓度的去垢剂影响，需确保 SDS 低于 0.01%，Triton X-100 低于 0.05%，Tween 20/ 60/80 低于 0.015%等
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作

使用说明:

一. 配制 BSA 标准品体系 (线性范围 100-1500ug/ml):

可参考下表配制不同浓度的标准品梯度, 并充分混匀, 避免气泡生成:

编号	V 稀释液 (ul)	V 标准品 (ul)	BSA 终浓度 (ug/ml)
1	70ul	标准品 30ul	1500ug/ml
2	30ul	从 1 管取 60ul	1000ug/ml
3	20ul	从 2 管取 60ul	750ug/ml
4	30ul	从 3 管取 60ul	500ug/ml
5	60ul	从 4 管取 60ul	250ug/ml
6	60ul	从 5 管取 60ul	125ug/ml
7	30ul	0ul	0ug/ml

标准品稀释液原则上应与为蛋白样品的溶解液一致, 但也可用蒸馏水、生理盐水或 PBS 进行稀释

二. 蛋白浓度测定:

- (1) 分别取 5 μ l 不同浓度蛋白标准品和待测样品加入 96 孔板中; 若样品不足, 可以用稀释液进行稀释, 但须记录样品稀释比例
- (2) 各孔加入 200 μ l G250 染色液, 充分振荡混匀, 室温孵育 2-3min
- (3) 用酶标仪测定 595nm 处的吸光度
- (4) 以标准蛋白浓度 (ug/ml) 为横坐标, 用 OD 值为纵坐标绘制标准曲线, 根据测出的待测样品的 A595 值, 即可得出样品的蛋白质浓度, 进而进行定量计算

参考标准曲线:

