

## Bradford蛋白定量试剂盒

产品货号: 26130

产品规格: 500T/1000T/2500T

### 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 $\beta$ -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 $\mu$ 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。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	500T	1000T	2500T	保存条件
试剂(A): G250染色液	100ml	200ml	500ml	室温
试剂(B): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	室温
试剂(C): 蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	室温

### 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 $^{\circ}$ C)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 $^{\circ}$ C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500 $\mu$ g/ml或所需浓度, 如取25 $\mu$ l 20mg/ml蛋白标准, 加入975 $\mu$ l蛋白标准稀释液, 充分混匀, 即配制成500 $\mu$ 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 $\mu$ g/ml蛋白标准溶液也应-20 $^{\circ}$ C长期保存。
4. 将标准品按0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 $\mu$ l加到96孔板或EP管中, 加蛋白标准稀释液补足至20 $\mu$ l。
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20 $\mu$ l。
6. 各孔加入200 $\mu$ l 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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>