

## Bradford 蛋白质定量试剂盒

产品编号	产品名称	包装
MA0081	Bradford 蛋白质定量试剂盒	1000T

### 产品简介:

Bradford 蛋白质定量试剂盒采用最常用的 Bradford 法检测蛋白浓度，与其他传统方法相比，Bradford 法因操作简便、方法稳定、抗干扰能力强等优点而被广泛使用。

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。如蛋白还原类物质 DTT、 $\beta$ -巯基乙醇等等，但高浓度的去垢剂会对测定值产生比较大的影响。故在使用 Bradford 法测定蛋白质浓度时需确保 SDS 低于 0.01%，Triton X-100 低于 0.05%，Tween 20, 60, 80 低于 0.015%。如果样品中去垢剂的成分过高建议使用 BCA 法测定蛋白质含量。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装	保存条件
1	蛋白质定量试剂,G250 溶液	100ml×2	4℃避光保存
2	标准蛋白溶液 BSA 5mg/ml	1ml	-20℃保存
3	1×PBS	10ml	4℃保存
4	说明书	1 份	

### 使用说明:

#### 1. 制备蛋白标准溶液

将 5mg/ml 的蛋白标准溶液按照下表进行稀释，注意在稀释时尽量保证蛋白标准溶液的稀释液与待检测蛋白样品的溶剂相同，在稀释时要保证每个浓度的标准蛋白溶液都充分混匀。以下表格内的体积适用于 96 孔酶标板测定，如使用分光光度计测定，按实际需要扩大溶液体积。

编号	1×PBS (μl)	蛋白标准溶液体积	最终浓度 (mg/ml)
A	90	从蛋白标准溶液 BSA 取 10μl	0.5
B	20	从 A 管取 80μl	0.4
C	20	从 B 管取 60μl	0.3

D	20	从 C 管取 40 $\mu$ l	0.2
E	20	从 D 管取 20 $\mu$ l	0.1
G	20	0	0

## 2. 蛋白标准和蛋白样品浓度测定

- 1) 取 10 $\mu$ l 上步骤已稀释好的不同浓度蛋白标准溶液依次加入到 96 孔酶标板中。
- 2) 取 10 $\mu$ l 待测蛋白样品加入到 96 孔酶标板中。
- 3) 每孔加入 250 $\mu$ l Bradford 蛋白质定量试剂。用手轻弹酶标板混匀，室温放置 3-5min，
- 4) 设置酶标仪测定 595nm 的吸光值，以不含 BSA 的吸光值做为空白对照。
- 5) 以蛋白标准液的浓度为横坐标，吸光值为纵坐标，绘制标准曲线，注意将零点去除，得出标准曲线线性公式及  $R^2$  值。
- 6) 按照上述步骤所得公式，根据所测得的蛋白样品吸光值，计算蛋白样品的浓度。
- 7) 如使用分光光度计测定，可根据实际需要扩大溶液体积，保证蛋白标准溶液和蛋白样品与 Bradford 蛋白定量试剂的体积比为 10:250。

### 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. 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。
5. 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。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。