

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

产品货号： AR0145

产品批号： 见外包装标签

产品规格： Bradford 染色液 100ml

BSA 标准品 20ml (2mg/ml)

产品描述： 应用试管法可以测量 100 管，微孔板法可以测量 400 孔

产品保存： 4℃ 保存，一年有效。

产品说明： 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。它是根据 Bradford 染液（考马斯亮蓝 G-250 染料）与蛋白结合，使染料的最大吸收峰从 A_{456} 变为 A_{595} ，且测定的吸光值与蛋白浓度成正比关系的原理设计的。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，最低蛋白检测量可达 $1 \mu\text{g}$ 。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. 各取样操作应准确无误。
2. 在 $100 \sim 1500 \mu\text{g/ml}$ 的浓度范围线性最佳。
3. 加入样品后的试剂，混合均匀后，静置反应，测量过程中切不要再次剧烈晃动。
4. Bradford 染色液使用前，应充分混匀。同时，酶标仪需预热 20min。
5. Bradford 染色液需恢复到室温再使用，有利于提高检测的灵敏度。
6. 每次试验都必须建立标准曲线。另外，为了得到更精确的结果，每个蛋白梯度和样品均需做复孔。
7. 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，如，SDS 需低于 0.01%，Triton X-100 低于 0.05%，Tween 20/ 60/80 低于 0.015% 等。（详情见附录）对于含去垢剂的样品，建议使用 BCA 蛋白定量检测试剂盒。

使用说明：

一、配制 BSA 标准品

标准品稀释液为蛋白样品的溶解液，原则上蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但也可用 0.9% 的 NaCl 或 $1 \times \text{PBS}$ 进行稀释。

BSA 标准品体系配制可参考下表。

Vial	稀释液体积 (μl)	2mg/ml BSA 体积 (μl)	BSA 终浓度 (μg/ml)
A	0	100	2000
B	25	75	1500
C	50	50	1000
D	125	25	500
E	250	12.5	250
F	375	6.25	125
G	500	3.125	62.5
H	750	1.5625	31.25
I	1000	0	0=Blank (空白孔)

二、检测方法

A. 试管法检测 (线性范围: 100-1500 μg/ml)

1. 各取 20 μl 不同浓度标准品和待测样品加入到反应管中;
2. 加入 1ml Bradford 染色液, 混匀。室温孵育 10min。
3. 分光光度计上测定 595nm 处的吸光度, 用装满水的比色皿对仪器校零。之后测定所有样本浓度。
4. 根据 BSA 标准品的吸光度 (减去标准品中空白孔的 OD 值即最终的读数), 绘制标准曲线 (X=蛋白浓度 μg/ml; Y=最终的 OD_{595nm})。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

B. 标准微孔板检测 (线性范围: 100-1500 μg/ml)

1. 各取 5 μl 各浓度标准品和待测样品加入到微孔板中;
2. 每孔加入 250 μl Bradford 染色液, 振荡 30s 充分混匀。盖上微孔板, 室温孵育 10min。
3. 酶标仪上测定 595nm 处的吸光度。或者其他 575~615nm 波长范围内的吸光度, 但是相对于 595nm, 吸光度会存在~10%的损失。
4. 根据 BSA 标准品的吸光度 (减去标准品中空白孔的 OD 值即最终的读数), 绘制标准曲线 (X=蛋白浓度 μg/ml; Y=最终的 OD_{595nm})。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。**注意:** 由于酶标板的光径比比色皿短, 经酶标板检测得到的 OD_{595nm} 会低于比色皿检测所得, 因此可能降低本法的检测下限。要得到更高的 OD_{595nm}, 可使用 7-10 μl 标准品/待检样本, 和 250 μl Bradford 染色液来进行检测。