



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

Bradford 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 β -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%, Triton X-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 μ g/ml, 最小检测蛋白量达到 0.5 μ g, 待测样品体积为 1~20 μ l, 在 50~1000 μ 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。

组成:

名称 \ 编号	R21252 500T	R21252 1000T	R21252 2500T	Storage
试剂(A): G250 染色液	100ml	200ml	500ml	RT
试剂(B): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	RT
试剂(C): 蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	RT
使用说明书	1 份			

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℃)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 10 mL 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℃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 500μg/ml 或所需浓度,如取 25μl 20mg/ml 蛋白标准,加入 975μl 蛋白标准稀释液,充分混匀,即配制成 500μg/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 500μg/ml 蛋白标准溶液也应-20℃长期保存。

4、将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20μl 加到 96 孔板或 EP 管中,加蛋白标准稀释液补足至 20μl。

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 20μl。

6、各孔加入 200μl 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,



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

加完 G250 染色液后, 尽量在 30min 内完成吸光度的测定, 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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

附录：标准曲线制作：源叶生物在室温条件下，按说明书操作，对系列标准进行吸光度的测定，其数值及标准曲线如下(仅供参考)，我们建议采用 50、100、200、300、400、500 $\mu\text{g/ml}$ 的蛋白标准绘制标准曲线(标准品浓度过高或过低都有可能影响标准曲线的准确性)：

蛋白标准($\mu\text{g/ml}$)	25	50	100	200	300	400	500
吸光度	0.486	0.536	0.607	0.721	0.815	0.930	1.007

注意：对于 10~50 $\mu\text{g/ml}$ 范围内的蛋白样品，要充分考虑如 SDS、Tween、Triton 等干扰因素，其检测结果波动较大，标准品亦有波动，请注意小心精细操作。

