



北京艾德莱生物科技有限公司

Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

- ◆ **Bradford**法蛋白定量试剂盒
 - ◆ 目录号 **PP02**
 - ◆ 使用手册
 - ◆ 实验室使用，仅用于体外
-

Bradford 法蛋白定量试剂盒

目录号: **PP02**

目录编号	包装单位
PP0201	250次
PP0202	1000次
PP0203	2500次

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	250 次	1000 次	2500 次
蛋白标准 (5mg/mlBSA)	-20℃	0.5ml	1ml	3ml
Bradford 染色液	4℃	50ml	200ml	500ml

本产品收到后按照上面指示温度存放各成份, 至少九个月内有效。

蛋白标准长期保存-20℃放置, 常温运输。

❖ 产品介绍:

Bradford 法蛋白定量试剂盒是在世界上常用的蛋白浓度检测方法之一 Bradford 法基础上(考马斯亮蓝结合显色法)改进而成。当 Bradford 染色液(考马斯亮蓝)和蛋白在酸性条件下结合时, 最大吸光值波长立刻由 465 nm 转移至 595nm, 同时颜色由褐色转为蓝色, 通过测定吸光值大小并对照标准蛋白的吸光值, 推算出蛋白浓度。

❖ 产品特点:

1. 灵敏度高, 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。
2. 检测速度极快, 10-20 个样品只需不足 10 分钟即可完成。
3. 在 50-1000 μ g/ml 浓度范围内有较好的线性关系。

❖ **注意事项**

1. Bradford 染色液含有刺激性或者腐蚀性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**
2. Bradford 染色液中考马斯亮蓝易聚集成团，每次使用前请颠倒 6-8 次并且竖直抓住瓶口做水平划圈动作，旋转瓶中液体，帮助**充分混匀**，但不可以上下振荡混匀。
3. 低温会降低 Bradford 染色液的敏感度，因此每次使用前应该使 Bradford 染色液恢复到室温。仅仅将需要的 Bradford 染色液复温，可以减少复温时间。倒出每次需要的 Bradford 染色液恢复到室温，将原瓶放回冰箱。
4. 蛋白标准请在**全部溶解后先混匀，再稀释**成一系列不同浓度的蛋白标准。标准品曲线配制时，如果吸量不准确或者加样枪不精确会造成标准曲线相关系数减小，可以根据需要使用倍比梯度稀释的方法来配制，或者使用精确度高的加样枪。
5. 由于 Bradford 法在蛋白浓度增高到一定时候，颜色反应并不成比例增加，因此得到的标准曲线只是在一定范围内可以近似看成直线，每次应按照实际测得的标准曲线计算出大致精确的蛋白浓度。
6. 需要酶标仪一台，最佳检测波长为 595nm，也可以在 570-610nm 之间波长测定，但会降低一些敏感度；并需 96 孔板。如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但是测定蛋白浓度时，需根据测定吸光度的杯子的体积，按比例调整 Bradford 染色液和样品的体积。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。
7. 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，样品中巯基乙醇的浓度可高达 1M，二硫苏糖醇的浓度可高达 5mM。但受略高浓度的去垢剂影响。需确保 SDS 低于 0.125%，Triton X-100 低于 0.125%，Tween 20 低于 0.06%。可以考虑用超纯水稀释，透析/除盐，ACETONE/TCA 沉淀蛋白后重溶于超纯水等方法来消除干扰物质的影响。

❖ **操作步骤：**（实验前请先阅读注意事项）

1. 完全溶解蛋白标准品(5mg/mlBSA)，取 **10 μ l**稀释至 **100 μ l**，使终浓度为 0.5mg/ml。蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 稀释标准品。
2. 将**稀释后标准品（0.5mg/mlBSA）**按 0，1，2，4，8，12，16，20 μ l 分别加到 96 孔板中，加标准品稀释液将所有标准品**补足到 20 μ l**。
3. 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中，加标准品稀释液补足到 **20 μ l**。
4. 各孔加入 **200 μ l** Bradford 染色液，用加样枪轻轻吹打混匀（注意不要弄出气泡影响读数）室温放置 3-5 分钟。
5. 用酶标仪测定 A595，或 570-610nm 之间的其它波长的吸光度。
6. 根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。