

Version: EC 1.2 (2021.04.01修订)

# Bradford蛋白浓度测定试剂盒

目录号: EC0002

## 01/产品组分

序号	组分	2500T EC0002
1	5×G250 染色液	100 mL
2	PBS 稀释液	30 mL
3	BSA 蛋白标准 (5 mg/mL BSA)	1 mL

## 02/保存条件

5×G250染色液和PBS稀释液保存于2-8℃；BSA蛋白标准（5 mg/mL BSA）保存于-20℃。开封使用后请密封保存。有效期1年。

## 03/产品概述

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒 (Bradford Protein Assay Kit) 是根据最常用的两种蛋白浓度检测方法之一 Bradford 法研制而成, Bradford 染色液主要成分是考马斯亮蓝 G-250 染料, 其会与蛋白质在酸性条件下结合, 最大吸光值波长由 456 nm 转至 595 nm, 吸光值与蛋白质的含量在一定浓度范围内有较好的线性关系, 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, 实现了蛋白浓度测定的快速, 稳定和高灵敏度。

## 04/注意事项

### 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 溶解蛋白标准品时要完全溶解, 具体方法见使用建议。
- ◇ 本产品会受到高浓度的去垢剂影响, 所以如样品中含有去垢剂, 推荐使用思科捷生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (EC0001)。

## 05/使用建议

### 提示：

#### ◇ 微孔酶标仪法

1. 完全溶解蛋白标准品，取10  $\mu\text{L}$ 蛋白标准品，选用适当溶液稀释至250  $\mu\text{L}$ ，使终浓度为0.2 mg/mL。一般来说，待测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. 5 $\times$ G250染色液可能因存放问题出现沉淀，使用前请颠倒3-5次混匀，取1 mL 5 $\times$ G250染色液，用双蒸水稀释成1 $\times$ G250染色液，此1 $\times$ G250染色液可在4 $^{\circ}\text{C}$ 保存一周。
3. 取标准品按0,2,4,6,8,12,16,20  $\mu\text{L}$ 的体积分别加到96孔板中，其中不足20  $\mu\text{L}$ 的孔，加PBS稀释液补足到20  $\mu\text{L}$ 。
4. 将样品作适当稀释（根据实验需求，设置几个合适梯度，如作2倍、4倍、8倍稀释），吸取20  $\mu\text{L}$ 样品加到96孔板的样品孔中。由于移液器在取少量时会出现误差，标准线前面的点可能不很准确，所以尽可能的让样品点落在标准线1/2后。
5. 各孔加入200  $\mu\text{L}$ 稀释后的1 $\times$ G250染色液，室温放置3-5min。
6. 用酶标仪测定A595，或560-610 nm之间的其它波长的吸光度。
7. 根据得出的标准曲线，从而计算出样品中的蛋白浓度。

#### ◇ 分光光度计法

如无酶标仪，染色反应可转移至离心管中进行，将反应液混匀后，加入比色皿中，使用分光光度计测定吸光值。

步骤如下：

1. 取八支（或者更多）干净的 10 mL 离心管，标记上号。
2. 使用 PBS 将 BSA 进行稀释，具体方法：取 100  $\mu\text{L}$  BSA 加入 PBS 2.4 mL，稀释至 BSA 终浓度为 0.2 mg/mL。
3. 5 $\times$ G250 染色液可能因存放问题出现沉淀，使用前请颠倒 3-5 次混匀，取 10 mL 5 $\times$ G250 染色液，用双蒸水稀释成 1 $\times$ G250 染色液，此 1 $\times$ G250 染色液可在 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存一周。

4. 按下表加入试剂（以每孔 5 mL 计，多余的用来清洗比色皿）。

离心管	BSA	PBS	1×G250染色液
1	0	500 μL	5 mL
2	100 μL	400 μL	5 mL
3	200 μL	300 μL	5 mL
4	300 μL	200 μL	5 mL
5	400 μL	100 μL	5 mL
6	500 μL	0	5 mL
7样品管1	500 μL适当稀释的样品1	0	5 mL
8样品管2	500 μL适当稀释的样品2	0	5 mL
9样品管3	500 μL适当稀释的样品3	0	5 mL

5. 反应 3 min 后测 OD 值。为了实验的准确性，可每间隔 2 min 加一管染色液，每间隔 2 min 测一管 OD 值。如下表：

离心管号	1	2	3	4	5	6	7	8	.....
加染色液 (min)	0	2	4	6	8	10	12	14	.....
测 OD 值 (min)	3	5	7	9	11	13	15	17	.....

## 06/相关产品

- EC0001 BCA蛋白浓度测定试剂盒
- EA0005 PMSF溶液
- EA0006 蛋白酶抑制剂混合物（哺乳动物样品抽提用,100×）
- EA0011 曲拉通 X-100

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

