Bradford 蛋白定量试剂盒

产品简介:

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 25μg/ml，最小检测蛋白量达到 0.5μg，待测样品体积为 1～20μl，在 50~1000μg/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。

产品组成:

编号 / 名称	GCPT0002 500T	GCPT0002 1000T	GCPT0002 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，上清液转人 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，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，否者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。

8、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期： 12 个月有效，蛋白标准配制成溶液后应-20℃冻存。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCPE0103	Acr-Bis(30%,29:1)
GCPI0011	苯甲基磺酰氟溶液(PMSF,100mmol/L)
GCPS0009	Western 及 IP 细胞裂解液
GCPT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
GCCS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
GCPW0084	丽春红 S 染色储存液(10×Ponceau S)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)