

## Bradford Protein Quantification Kit

### Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存
Bradford Protein Quantification Kit	20202ES76	500T	4°C
Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	20202ES86	2500T	4°C

#### 产品描述

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。

我司提供二种规格的 Bradford 蛋白浓度检测试剂盒,比色皿法分别可做 125 次和 625 次。酶标法分别可做 500 次和 2500 次。

#### 产品组分

编号	组分	产品编号/规格	
		20202ES76 (500T)	20202ES86 (2500T)
20202-A	Bradford 蛋白染色液	125mL	5×125 mL
20202-B	蛋白标准品 (BSA)	5×1mL (2mg/mL)	5×2mL (2mg/mL)

#### 运输与保存方法

冰袋运输。

染色液 4°C 保存,蛋白标准品常温或 4°C 保存,有效期一年。

#### 注意事项

- Bradford 染色液使用前,应充分混匀。同时,酶标仪需预热 20min。
- Bradford 染色液需恢复到室温再使用,有利于提高检测的灵敏度。另,使用前需颠倒几次以充分混匀。
- 由于 Bradford 染液的颜色反应并不是同递增的蛋白浓度呈线性关系,因此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。
- 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。对于含去垢剂的样品,建议使用 BCA 增强型蛋白定量检测试剂盒【货号:20201ES76】。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 操作方法

##### 一、配制标准品

###### 1. 配制 BSA 标准品体系

【注】: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×PBS 进行稀释。

BSA 标准品体系配制可参考表一。

表一 BSA 标准品体系配制 (微孔板检测, 线性范围 100-1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

Vial	稀释液体积( $\mu\text{L}$ )	2mg/mL BSA 体积( $\mu\text{L}$ )	BSA 终浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
A	0	100	2000
B	25	75	1500
C	50	50	1000
D	125	75	750
E	150	50	500
F	350	50	250
G	375	25	125
H	395	5	25
I	400	0	0=Blank

## 二、检测方法

### A. 标准比色皿检测 (线性范围: 100-1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

1. 各取 20 $\mu\text{L}$  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。【注】: 样本室温孵育时间不可超过 1h;
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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; Y-最终的 OD<sub>595nm</sub>)。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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

1. 各取 5 $\mu\text{L}$  各浓度标准品和待测样品加入到微孔板中;
2. 每孔加入 250 $\mu\text{L}$  Bradford 染色液, 振荡 30s 充分混匀。盖上微孔板, 室温孵育 10min。【注】: 样本室温孵育时间不可超过 1h;
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 0-10% 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; Y-最终的 OD<sub>595nm</sub>)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

【注】: a) 由于酶标板的光径比比色皿短, 经酶标板检测得到的 OD<sub>595nm</sub> 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<sub>595nm</sub>, 可使用 7-10 $\mu\text{L}$  标准品/待检样本, 和 250 $\mu\text{L}$  Bradford 染色液来进行检测。b) 如果使用与酶标仪相关的曲线拟合算法 (curve fitting algorithm), 那么四参数或者最佳拟合曲线可能得到更为精确的结果, 并不是单纯的线性拟合。若是手动标记各点浓度, 点-点曲线出来的结果精确于线性拟合。若对结果准确性的要求不是非常严格, 可使用线性拟合分析数据。

附录

表: Brandford 蛋白浓度测定的兼容性

名称 (盐/缓冲液)	耐受浓度
ACES, pH 7.8	100mM
Ammonium sulfate	1M
Asparagine	10mM
Bicine, pH 8.4	100mM
Bis-Tris, pH 6.5	100mM
Borate (50mM), pH 8.5	undiluted
Calcium chloride in TBS, pH 7.2	10mM
Na-Carbonate/Na-Bicarbonate (0.2M), pH 9.4	undiluted
Cesium bicarbonate	100mM
CHES, pH 9.0	100mM
Na-Citrate (0.6M), Na-Carbonate (0.1M), pH 9.0	undiluted
Na-Citrate (0.6M), MOPS (0.1M), pH 7.5	undiluted
Cobalt chloride in TBS, pH 7.2	10mM
EPPS, pH 8.0	100mM
Ferric chloride in TBS, pH 7.2	10mM
Glycine	100mM
Guanidine•HCl	3.5M
HEPES, pH 7.5	100mM
Imidazole, pH 7.0	200mM
MES, pH 6.1	100mM
MES (0.1M), NaCl (0.9%), pH 4.7	undiluted
MOPS, pH 7.2	100mM
Nickel chloride in TBS, pH 7.2	10mM
PBS; Phosphate (0.1M), NaCl (0.15M), pH 7.2	undiluted
PIPES, pH 6.8	100mM
RIPA lysis buffer; 50mM Tris, 150mM NaCl, 0.5% DOC, 1% NP-40, 0.1% SDS, pH 8.0	1/10 dilution*
Sodium acetate, pH 4.8	180mM
Sodium azide	0.5%
Sodium bicarbonate	100mM
Sodium chloride	5.0M
Sodium citrate, pH 4.8 or pH 6.4	200mM
Sodium phosphate	100mM
Tricine, pH 8.0	100mM
Triethanolamine, pH 7.8	100mM
Tris	2M
TBS; Tris (25mM), NaCl (0.15M), pH 7.6	undiluted
Tris (25mM), Glycine (192mM), pH 8.0	undiluted
Tris (25mM), Glycine (192mM), SDS (0.1%), pH 8.3	1/2 dilution*
Zinc chloride in TBS, pH 7.2	10mM

名称 (变性剂)	耐受浓度	还原剂以及巯基试剂	耐受浓度
Brij™-35	0.125%	Dithiothreitol (DTT)	5mM
Brij-56, Brij-58	0.031%	Glucose	1M
CHAPS, CHAPSO	5.0%	Melibiose	100mM
Deoxycholic acid	0.05%	2-Mercaptoethanol	1M
Lubrol™ PX	0.125%	Potassium thiocyanate	3M
Octyl β-glucoside	0.5%	Thimerosal	0.01%
Nonidet P-40 (NP-40)	0.5%	<b>Misc. Reagents &amp; Solvents</b>	<b>耐受浓度</b>
Octyl β-thioglucopyranoside	3.0%	Acetone	10%
SDS	0.125%	Acetonitrile	10%
Span™ 20	0.5%	Aprotinin	10mg/L
Triton™ X-100, X-114	0.125%	DMF, DMSO	10%
Triton X-305, X-405	0.5%	Ethanol	10%
Tween™-20	0.062%	Glycerol (Fresh)	10%
Tween-60	0.1%	Hydrochloric Acid	100mM
Tween-80	0.062%	Leupeptin	10mg/L
Zwittergent™ 3-14	0.025%	Methanol	10%
<b>螯合剂</b>	<b>耐受浓度</b>	Phenol Red	0.5mg/mL
EDTA	100mM	PMSF	1mM
EGTA	2mM	Sodium Hydroxide	100mM
Sodium citrate	200mM	Sucrose	10%
<b>还原剂以及巯基试剂</b>	<b>耐受浓度</b>	TLCK	0.1mg/L
N-acetylglucosamine in PBS, pH 7.2	100mM	TPCK	0.1mg/L
Ascorbic acid	50mM	Urea	3M
Cysteine	10mM	o-Vanadate (sodium salt), in PBS, pH 7.2	1mM
Dithioerythritol (DTE)	1mM		