



Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

产品货号: AR0145

产品名称: Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

产品批号: 见外包装标签

产品规格: Bradford 染色液 100ml

BSA 标准品 20ml (2mg/ml)

产品保存: 4°C保存, 一年有效。

产品描述: 应用试管法可以测量 100 管, 微孔板法可以测量 400 孔。

产品说明:

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 A456 变为 A595, 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 μ 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。

注意事项:

- 1.各取样操作应准确无误。
- 2.在 100~1500 μ g/ml 的浓度范围线性最佳。
- 3.加入样品后的试剂, 混合均匀后, 静置反应, 测量过程中切不要再次剧烈晃动。
4. Bradford 染色液使用前, 应充分混匀。同时, 酶标仪需预热 20min。
5. Bradford 染色液需恢复到室温再使用, 有利于提高检测的灵敏度。
- 6.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。
7. 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。(详情见附录) 对于含去垢剂的样品, 建议使用 BCA 蛋白定量检测试剂盒。

使用说明:

FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR DIAGNOSTIC AND CLINICAL USE.



一. 配制 BSA 标准品

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下表。

Vial	稀释液体积(μl)	2mg/ml BSA 体积(μl)	BSA 终浓度(μg/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 (空白孔)

二、检测方法

A. 试管法检测 (线性范围: 100-1500μg/ml)

1. 各取 20μl 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。
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μg/ml; Y=最终的 OD_{595nm})。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: 100-1500μg/ml)

1. 各取 5μl 各浓度标准品和待测样品加入到微孔板中;
2. 每孔加入 250μl Bradford 染色液, 振荡 30s 充分混匀。盖上微孔板, 室温孵育 10min。

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

FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR DIAGNOSTIC AND CLINICAL USE.



是相对于 595nm, 吸光度会存在~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 $\mu\text{g/ml}$; Y=最终的 $\text{OD}_{595\text{nm}}$)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。**注意:** 由于酶标板的光径比比色皿短, 经酶标板检测得到的 $\text{OD}_{595\text{nm}}$ 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 $\text{OD}_{595\text{nm}}$, 可使用 7-10 μl 标准品/待检样本, 和 250 μl Bradford 染色液来进行检测。

附录: 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%

FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR DIAGNOSTIC AND CLINICAL USE.



Sodium bicarbonate	100mM
Sodium chloride	5.0M
Sodium citrate, pH 4.8 or pH 6.4	200mM
Sodium phosphate	100mM

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%	Misc. Reagents & Solvents	耐受浓度
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%
螯合剂	耐受浓度	Phenol Red	0.5mg/mL
EDTA	100mM	PMSF	1mM
EGTA	2mM	Sodium Hydroxide	100mM
Sodium citrate	200mM	Sucrose	10%
还原剂以及巯基试剂	耐受浓度	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		