

蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）

Cat #: KTD3002

Size: 500 T/2000 T/5000 T

	蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）		
	货号：KTD3002		批号：见产品标签
	蛋白浓度范围：50-1000 µg/mL		
	保质期：自发货之日起，在 4°C 下可以稳定保存 12 个月以上，Bradford Reagent 在 4°C 条件下能稳定保存，BSA Standard 在首次融化之后要分装保存于 -20°C。		

原理

蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）提供了一种简单，快速测定样品中蛋白质浓度的方法。该方法利用改进的考马斯蓝 G-250 试剂，它可以和蛋白质形成蓝色络合物。当考马斯染料在酸性溶液中和蛋白质结合，最大吸收波长在很短的时间内从 465 nm 变为 595 nm，同时颜色从棕色变为蓝色。蓝色络合物的强度与样品中蛋白质含量成正比。Bradford 蛋白质测定法适合于测量 50-1000 µg/mL (1-20 µg 蛋白质) 范围内的蛋白质浓度。

包装清单

试剂盒组分	规格			储存条件
	500 T	2000 T	5000 T	
Bradford Reagent (2×)	50 mL	200 mL	500 mL	4°C
BSA Standard (10 mg/mL)	1 mL	4 mL	10 mL	-20°C

自备耗材

- 微型离心机
- 移液器及吸头
- 比色酶标仪或分光光度计
- 96 孔板或者试管
- 轨道振动器

试剂准备

注意：使用前，使所有试剂处于室温。如果 Bradford Reagent 浓缩液中出现晶体，缓慢加热直至完全溶解。

Bradford 工作液：使用蒸馏水稀释 2×Bradford Reagent，制备工作液。总体积按照样品和标准品数量来定。每个样品或标准品需加入 200 µL 工作液。

样本制备

样本溶液：稀释样品至浓度在 0.05-1 mg/mL 范围内。

实验步骤

A. 微型板操作流程

1. 标准液制备。将 8 个试管按照 0 到 7 进行标记。最好使用和样本溶液成份相同的缓冲液将 BSA 标准品稀释成 1 mg/mL 工作液。按下表梯度稀释。

标准管	0	1	2	3	4	5	6	7
BSA 工作液 (μL)	0	5	10	20	40	60	80	100
缓冲液 (μL)	100	95	90	80	60	40	20	0
浓度 (μg/mL)	0	50	100	200	400	600	800	1000

2. 吸取 20 μL 标准品或样品，加入 96 孔板底部，每个样本两个孔。
3. 向上述孔中加入 200 μL Bradford 工作液。
4. 轻轻摇晃混匀。室温，孵育 5 min。
5. 在 595 nm 波长下测量 OD 值。样本信号可稳定保存 30 min 以上。

B. 试管操作流程

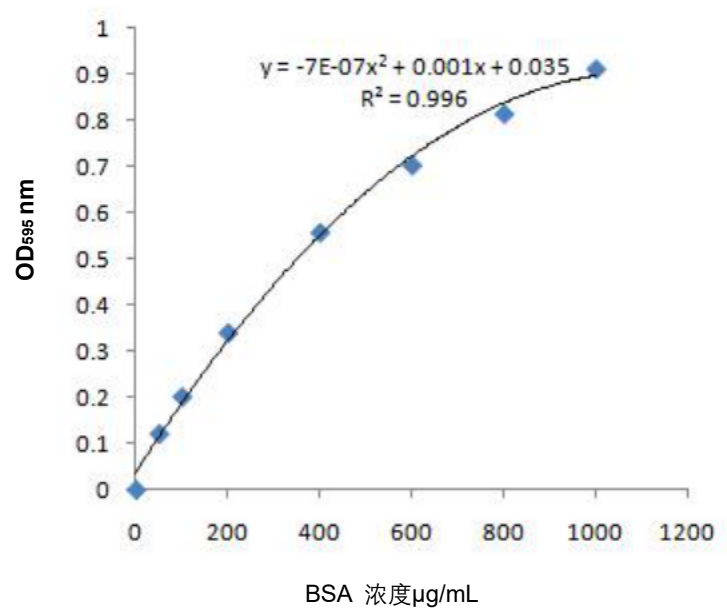
依据试管规格，按照上述方法操作，可以适当比例增加各溶液使用量。

结果计算

- 标准品和样品 OD 值减去空白 OD 值（零标准）。以校正后 OD 值和标准品浓度来绘制标准曲线。依据标准曲线计算样品蛋白质浓度。也可以根据标准曲线方程式来确定样品中蛋白质浓度。
- 如果样品已被稀释，则必须将标准曲线计算出的浓度乘以稀释倍数。

结果展示

以下标准曲线仅作参考。实际曲线应该依据每次测试样本来制作。



注意事项

1. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染；
2. 储存试剂几个小时后会有染料共聚体形成，而染料-蛋白质共聚体形成更快。温和混匀可以完全分解染料共聚体。实验前混匀 Bradford 试剂，并在测量吸光度之前混匀各个试管或平板；



3. 有些物质会严重干扰 Bradford 实验，包括大多数离子型和非离子型去污剂，它们会削弱颜色显影并可能导致试剂沉淀；
4. 有些物质会轻微干扰 Bradford 实验，当这些物质在样品中浓度低于一定值时仅具有较小影响（可耐受）。如 EDTA，葡萄糖，DTT，2-巯基乙醇等；
5. 分析含还原剂蛋白样本时，向标准品中加入同等还原剂，可得到较好结果；
6. 如果使用与酶标仪关联的曲线拟合算法，相比于纯线性拟合曲线，四参数（二次曲线）或最佳拟合曲线的结果更准确。如果手工绘制曲线，点对点绘制曲线比标准点曲线更好。

相关产品

货号	产品名称
KTD3001	蛋白质定量试剂盒（BCA 法）
BMM3001	彩色预染蛋白质 Marker（10-180 kDa）
BMM3002	彩色预染蛋白质 Marker（15-130 kDa）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

