

Detergent Compatible Bradford Protein Quantification Kit

E211

Version 21.1



产品概述

Bradford法(考马斯亮蓝法),是目前灵敏度最高的蛋白质浓度测定方法之一。当Bradford染色液(考马斯亮蓝G250)和蛋白在酸性条件下结合时,溶液颜色由棕黑色转为蓝色,最大吸光值波长由456 nm转为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。

本试剂通过研发升级,对蛋白提取中常见的去垢剂有很高的耐受性。本试剂盒和常规的Bradford蛋白浓度测定试剂盒相比,可以兼容一系列常见的去垢剂,克服了Bradford法对去垢剂敏感的缺点;和BCA法相比,能够兼容高浓度的还原剂,并且检测速度极快,在检测含去垢剂样品蛋白浓度时,更加快捷。

产品组分

组 分	E211-01 500 rxns
BSA Standard (20 mg/ml)	2 × 1 ml
Bradford Reagent	150 ml

保存条件

Bradford Reagent, 2 ~ 8°C保存,根据不同目的地调整运输方式。

BSA Standard, -30 ~ -15°C保存, ≤0°C运输。

适用范围

本产品适用于绝大部分常用的裂解液提取的蛋白样品,但不适用于含有高浓度去垢剂的蛋白样品。

注意事项

1. Bradford法对去垢剂敏感,受高浓度去垢剂影响。需确保SDS浓度低于3%, Triton X-100低于4%, Tween-20低于3%, NP-40低于3%。
2. 染色液使用前请混匀。本产品中含有抑制去垢剂的化学试剂,长时间放置会产生少量沉淀,使用前请充分混匀,避免影响检测准确性。
3. 将染色液放置到室温再使用,有利于提高检测的灵敏度。
4. 由于Bradford法在蛋白浓度增高到一定程度后,颜色反应并不成线性增加,因此标准曲线只是在一定范围内可以近似看成直线,每次应按照实际测得的标准曲线计算出相对精确的蛋白浓度。
5. 反应在10 min后显色充分,在10 min后可能开始出现沉淀。故建议在加入染色液后5 - 10 min内完成检测,误差较小。
6. 推荐使用塑料比色皿。如使用玻璃比色皿或石英比色皿,使用后立即用少量95%的乙醇清洗。
7. 为了您的安全和健康,请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

实验流程

A. 96孔酶标板测定:

1. 蛋白标准液配制。将20 mg/ml的BSA母液按照下表进行稀释。

编号	蛋白稀释液体积 (μl)	BSA标准品体积	BSA终浓度 (mg/ml)
A	95	5 μl	1
B	20	从A管取80 μl	0.8
C	20	从B管取60 μl	0.6
D	20	从C管取40 μl	0.4
E	30	从D管取30 μl	0.2
F	30	从E管取30 μl	0.1
G	50	-	0

2. 标准曲线绘制。取一块酶标板，按以下表格数据加入试剂：

孔号	G	F	E	D	C	B	A
蛋白标准 (μl)	10	10	10	10	10	10	10
Bradford Reagent (μl)	300	300	300	300	300	300	300
对应的蛋白含量 (μg)	0	1	2	4	6	8	10

3. 振荡混匀后，室温放置5 - 10 min。

4. 用酶标仪测定A595 nm处的吸光值，以不含BSA的光吸收值为空白对照。

5. 以蛋白含量 (μg) 为横坐标，吸光值为纵坐标，绘制标准曲线。

6. 样品测定：将待测蛋白样品用去离子水稀释至适当浓度。取10 μl样品，加入300 μl Bradford Reagent，混匀后放置5 - 10 min，然后以0号孔为对照，测定样品在A595 nm处的吸光值。

7. 根据测得的吸光值，在标准曲线上即可查得样品的蛋白含量。

8. 计算蛋白浓度：以检测的样品蛋白的吸光值为Y值，带入标曲方程计算出X的值即为样品蛋白浓度。

B. 比色皿测定

按照比色皿规格，与以上方法相同，适当按比例增加各溶液体积即可。

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。