



Bradford Protein Assay Kit

Bradford 蛋白质定量试剂盒

版本号: V220801

货号: E161

保存: 4°C, 其中“BSA Protein Standard”-20°C保存

运输: 低温

货号	规格
E161-01	100 ml

【产品概述】

Bradford 蛋白质定量试剂盒是根据 Bradford 染料结合原理, 利用考马斯亮蓝 G-250 染料可与蛋白质结合 (主要结合碱性或芳香族氨基酸残基), 形成蓝色复合物的特性, 通过测定样品在 595 nm 波长下的吸光值, 并同 BSA 标准品所绘制的定量标准曲线做对比, 即可计算出待测样品的蛋白质浓度。该方法可测定分子量在 3000 以上的多数蛋白和多肽的浓度, 具有灵敏度高、操作简便、快速、价格低廉等特点, 是目前实验室最常用的蛋白质粗略定量方法。由于 Bradford 测定法会受样品中的一些试剂, 特别是去垢剂的干扰 (见【附表】), 故使用时应先排除干扰因素。

【产品组分】

组分名称	E161-01
5xBradford Protein Assay Reagent	100 ml (约500次标准法)
BSA Protein Standard (2 mg/ml)	1 ml×10

【保存条件】

4°C或室温保存, 保质期 12 个月, 其中“BSA Protein Standard”-20°C保存。

【使用方法】

I. 比色杯法

A. 标准法 (线性范围: 100-1000 µg/ml; 反应总体积: 1.02 ml)

1. 制备1xBradford工作液: 根据标准品和待测样品的数量, 取适量的5xBradford Protein Assay Reagent, 加入4倍体积的去离子水稀释 (例如: 取1 ml的5xBradford Protein Assay Reagent, 加入4 ml去离子水稀释混匀);
2. 配制BSA Protein Standard梯度浓度溶液: 用去离子水将BSA Protein Standard稀释成不同浓度 (如: 0, 100, 200, 400, 800, 1000 µg/ml), 以制作标准曲线;
3. 分别取20 µl各个待测样品或步骤2中所配制的BSA Protein Standard梯度浓度溶液与1 ml 1xBradford工作液均匀混合, 加入比色杯中;
4. 室温静置5 min (注: 请勿超过1 h);
5. 使用分光光度计检测BSA Protein Standard的595 nm吸光值并绘出标准曲线;
6. 使用分光光度计检测待测样品的595 nm吸光值, 并依据步骤5所绘出的标准曲线换算出待测蛋白样品的浓度。

B. 微量法 (线性范围: 1-20 µg/ml; 反应总体积: 1 ml)

1. 配制BSA Protein Standard反应溶液: 先用去离子水将BSA Protein Standard稀释成1 mg/ml, 按下表配制不同浓度的BSA Protein Standard与Bradford Protein Assay Reagent的反应溶液, 并混匀, 以制作标准曲线;

BSA终浓度 (µg/ml)	0	1	5	10	15	20
5xBradford Protein Assay Reagent (µl)	200	200	200	200	200	200
1 mg/ml BSA (µl)	0	1	5	10	15	20
ddH ₂ O (µl)	800	799	795	790	785	780

2. 配制待测样品反应溶液: 取出适量待测样品加入洁净的比色杯中, 并加入200 µl 5xBradford Protein Assay Reagent, 然后用去离子水将反应总体积补足至1 ml, 并混匀;



样品编号	1	2	3
样品体积 (μl)	X	Y	Z
5xBradford Protein Assay Reagent (μl)	200	200	200
ddH ₂ O (μl)	800-X	800-Y	800-Z

- 将步骤1和步骤2所配制的反应溶液，室温静置5 min（注：请勿超过1 h）
- 使用分光光度计检测BSA Protein Standard的595 nm吸光值并绘出标准曲线；
- 使用分光光度计检测待测样品的595 nm吸光值，并依据步骤4所绘出的标准曲线换算出待测样品的蛋白质浓度。

II. 96孔板法

A. 标准法（线性范围：40-500 μg/ml；反应总体积：210 μl）

- 制备1xBradford工作液：根据标准品和待测样品的数量，取适量的5xBradford Protein Assay Reagent，加入4倍体积的去离子水稀释（例如：取1 ml的5xBradford Protein Assay Reagent，加入4 ml去离子水稀释混匀）
- 配制BSA Protein Standard梯度浓度溶液：用去离子水将BSA Protein Standard稀释成不同浓度（如：0, 50, 150, 250, 350, 450 μg/ml），以制作标准曲线；
- 分别取10 μl各个待测样品或步骤2中所配制的BSA Protein Standard梯度浓度溶液与200 μl 1xBradford工作液均匀混合，加入96孔板中；
- 室温静置5 min（注：请勿超过1小时）；
- 使用酶标仪检测BSA Protein Standard的595 nm吸光值并绘出标准曲线；
- 检测待测样品的595 nm吸光值，并依据步骤5所绘出的标准曲线换算出待测蛋白样品的浓度。

B. 微量法（线性范围：1-20 ug/ml；反应总体积：200 ul）

- 配制BSA Protein Standard反应溶液：用去离子水将BSA Protein Standard稀释成1 mg/ml，按下表配制不同浓度的BSA Protein Standard与Bradford Protein Assay Reagent的反应溶液，加入96孔板中，以制作标准曲线；

BSA终浓度 (μg/ml)	0	2.5	5	10	15	20
5xBradford Protein Assay Reagent (μl)	40	40	40	40	40	40
1 mg/ml BSA (μl)	0	0.5	1	2	3	4
ddH ₂ O (μl)	160	159.5	159	158	157	156

- 配制待测样品反应溶液：取出适量待测样品加入96孔板中，并加入40 μl 5xBradford Protein Assay Reagent，然后用去离子水将反应总体积补足至200 ul，并混匀；

样品编号	#1	#2	#3
样品体积 (μl)	X	Y	Z
5x Bradford Protein Assay Reagent (μl)	40	40	40
ddH ₂ O (μl)	160-X	160-Y	160-Z

- 将步骤1和步骤2所配制的反应溶液在96孔板中混匀，室温静置5 min（注：请勿超过1 h）；
- 使用酶标仪检测BSA Protein Standard的595 nm吸光值并绘出标准曲线；
- 检测待测样品的595 nm吸光值，并依据步骤4所绘出的标准曲线换算出待测样品的蛋白质浓度。

【附表】样品中所含化学物质的可接受浓度：

化学物质	β-mercaptoethanol	DTT	HEPES	KCl	NaCl	Triton X-100
可接受浓度	1 M	5 mM	0.1 M	1 M	5 M	0.1%
化学物质	NH₄SO₄	SDS	Tris	MgCl₂	Urea	Tween-20, 60, 80
可接受浓度	1 M	0.1%	2 M	1 M	6 M	0.015%

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。