



版本号：DE260105

Bradford Protein Assay Kit Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

产品编号：SK1060

产品内容：

产品货号	产品内容	规格（500T）	规格（2500T）	储存温度
SL1040	5 × G-250 染色液	20 mL	100 mL	RT
SL6100	PBS 稀释液	10 mL	30 mL	RT
SL1060	BSA 蛋白标准液（5 mg/mL）	1 mL	1 mL	2-8°C

运输及储存条件： 常温运输；各组分按所示温度保存。BSA 蛋白标准液冻干粉配置为溶液后-20°C保存，建议分装避免反复冻融。保质期 18 个月。

产品介绍：

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒是根据 Bradford 法研制而成，实现了蛋白浓度测定的快速，稳定和高灵敏度。该产品具有检测速度快，10-20 个样品只需不足 10 分钟即可完成；灵敏度高，检测浓度下限达 25 μg/mL，最小检测蛋白量达到 0.5 μg，样品体积 1-20 μL；在 50-1000 μg/mL 浓度范围内有较好的线性关系，且 1 小时内稳定，5-20 min 之间，稳定性最好。

Bradford 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响。耐受 β-巯基乙醇的浓度可高达 1 M，二硫苏糖醇的浓度可高达 5 mM。但受略高浓度的去垢剂影响，需确保 SDS 低于 0.05%，Triton X-100 低于 0.05%，Tween 20、Tween 60 或 Tween 80 低于 0.02%，含去垢剂的样品推荐使用 Coolaber 生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（SK1070）。



注意事项：

1. G-250 染色液（5×）使用前请颠倒 3-5 次，混匀。
2. G-250 染色液恢复到室温再使用，有利于提高检测的灵敏度。
3. 需可检测 560-610 nm 之间波长的酶标仪一台，最佳检测波长为 595 nm。并需 96 孔板。

操作步骤：

一、稀释 BSA 标准品

1. 配制 5 mg/mL BSA 蛋白标准液：取标有 BSA 蛋白标准液的冻干粉，瞬离后加入 1 mL 无菌水，涡旋充分溶解，溶解后置于冰上放置，使用后-20℃保存。
2. 配制 0.5 mg/mL BSA 工作液：取 50 μL 5 mg/mL 蛋白标准液，加入 450 μL PBS 稀释液，混匀即得到终浓度为 0.5 mg/mL 的 BSA 蛋白工作液，溶解后冰上放置，使用后-20℃保存。

二、配制 G-250 染色液

1. G-250 染色液总体积计算：

体积=（BSA 标准品样品个数+待测样品个数）× 重复数 × 每个样品检测液体积。

注：如使用酶标仪 96 孔板，每个样品检测液体积推荐 200 μL。因标准液使用中可能存在误差及体积损失，建议增加 1~2 个孔的用量。

2. 5×G-250 染色液，体积为计算体积的 1/5，加 4 倍体积的双蒸水稀释成 1×G-250 染色液，需现配现用。

三、蛋白浓度测定

1. 按下表所示体积，先添加 PBS 稀释液至 96 孔板，后添加 0.5 mg/mL BSA 蛋白工作液至对应孔中，移液枪反复吹吸将溶液混匀。最后每孔加入 G-250 染色液（1×）200 μL。

加样顺序	标样编号								样品编号	
标记编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PBS 稀释液	20 μL	19 μL	18 μL	16 μL	12 μL	8 μL	4 μL	0	20	...
BSA 蛋白工作液	0	1 μL	2 μL	4 μL	8 μL	12 μL	16 μL	20 μL	μL	
G-250 染色液（1×）	200 μL									



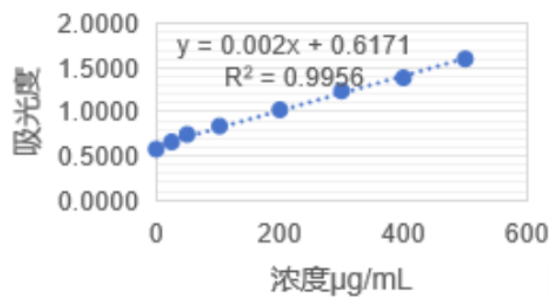
注：BSA 蛋白标样浓度 ($\mu\text{g/mL}$) 分别为：0、25、50、100、200、300、400、500。

2. 蛋白样品检测浓度在 50-1000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内结果较为准确，超出检测极限易导致测定偏差较大。建议将待测蛋白样品用 PBS 稀释液进行梯度稀释，选取检测浓度在前述范围内的样品作为测定结果。
3. 用酶标仪测定 A595 的吸光度，或选择 560-610 nm 之间波长。

四、绘制标准曲线，计算蛋白浓度

1. 绘制标准曲线或使用 Excel 表格插入散点图，选择添加趋势线、线性方程和 R^2 值。

注： R^2 需要满足 $R^2 \geq 0.99$ ，若 R^2 偏低，则需根据散点图及趋势线去除偏离较远的点，以提高 R^2 数值，剩余点数不得少于 5 个。若使用分光光度计测量， R^2 标准可适当降低。



2. 根据所得线性方程计算蛋白浓度，如蛋白进行过稀释，实际浓度需要乘以样品稀释倍数。



Bradford 与 BCA 蛋白定量试剂盒对样品中化学成分的耐受范围：

名称	BCA (SK1070)	Bradford (SK1060)
Ammonium Sulfate	1.5 M	1.0 M
Brij-35	5.00%	0.12%
CHAPS	5.00%	5.00%
EDTA	10 mM	100 mM
EGTA	0	50 mM
HEPES	100 mM	100 mM
Glycine (pH2.8)	100 mM	100 mM
Guanidine HCl	4.0 M	3.5 M
Tween 20、Tween 60、Tween 80	5.00%	0.06%
SDS	5.00%	0.10%
Sodium Acetate (pH5.5)	200 mM	180 mM
Sodium Chloride (NaCl)	1.0 M	5.0 M
Sucrose	40%	10%
Sodium Hydroxide (NaOH)	0.1 M	0.1M
NP-40	5.00%	0.50%
Triton X-100	5.00%	0.10%
Urea	3.0 M	3.0 M
DTT	1 mM	5 mM
β-巯基乙醇	1 mM	1 M