

改良型Bradford蛋白浓度测定试剂盒

产品货号：26476

产品规格：200Assays（分光光度法），1000 Assays（酶标板法）

产品简介：

在使用常规Bradford试剂进行蛋白定量时，考马斯亮兰G-250染料分子以及G-250与蛋白质复合物之间会发生聚集，随着时间的延长，产生可见的易沉降的颗粒，使得在A595nm处测定的吸光度值偏低。针对此种情况，本试剂盒通过添加特殊的试剂，使得考马斯亮兰G-250染料分子之间以及G-250与蛋白质复合物在30min内不容易发生沉降，从而提高了测量结果的准确性，使得大量样品的定量变得从容不迫。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件
Bradford试剂	200mL	2-8°C
BSA标准蛋白（1mg/mL）	5mL	-20°C

产品特点：

1. 在30min内，G-250染料分子和G-250与蛋白质复合物不容易发生沉淀。
2. 能够适应中度疏水的膜或粘性蛋白的定量。
3. 比较适合进行大量样品的定量。
4. 与常规的Bradford法相比，线形关系更佳，保证了结果的准确性。

操作步骤：

A. 试剂准备

1. 将样品用蒸馏水做适当倍数的稀释。
2. 取1.5mL离心管，按照下表的比例分别加入各溶液，其中0号管为空白对照：

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
蒸馏水（ μL ）	1000	995	990	985	980	975	970	950	900	850	800	750	700
1mg/mL（ μL ）	0	5	10	15	20	25	30	50	100	150	200	250	300
BSA浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）	0	5	10	15	20	25	30	50	100	150	200	250	300

B1. 分光光度法一（测定蛋白浓度在50-300 $\mu\text{g/ml}$ 之间）

1. 取18支1.5mL离心管，分为标准组和样品组：
标准组：14支1.5mL离心管，每个标准品设置1个重复，各管分别加入100 μl 相应浓度的BSA标准蛋白质溶液，对应表格管编号为0、7、8、9、10、11和12号；
样品组：4支1.5mL离心管，分为2个重复组，同一重复组离心管编号相同，其中不同编号的两管加入100 μl 不同浓度的样品稀释液；
2. 各管加入1mL Bradford工作液，迅速混匀；
3. 室温25~30°C，反应10min后，以0号管为空白对照，在分光光度计上测各管的A595值；
4. 以标准组各管A595平均值为纵坐标，对应的蛋白质浓度为横坐标，在Microsoft Excel软件中绘制标准曲线（插入散点图，R²值大于0.99）；
5. 根据两个相同样品稀释液A595值的平均值，在标准曲线上计算出该样品经过稀释后的蛋白质浓度，选择合适稀释度的样品计算最终的样品蛋白浓度，再由稀释倍数计算原样品蛋白质浓度。

B2. 分光光度法二（测定蛋白浓度在5-30 $\mu\text{g/ml}$ 之间）



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

1. 取18支1.5mL离心管，分为标准组和样品组：
标准组：14支1.5mL离心管，每个标准品设置1个重复，各管分别加入500 μ l相应浓度的BSA标准蛋白质溶液，对应表格管编号为0、1、2、3、4、5和6号；
样品组：4支1.5mL离心管，分为2个重复组，同一重复组离心管编号相同。其中不同编号的两管加入500 μ l不同浓度的样品稀释液；
2. 各管加入500 μ l Bradford工作液，迅速混匀；
3. 室温25~30 $^{\circ}$ C，反应10 min后，以0号管为空白对照，在分光光度计上测各管的A595值；
4. 以标准组各管A595平均值为纵坐标，对应的蛋白质浓度为横坐标，在Microsoft Excel软件中绘制标准曲线（插入散点图，R²值大于0.99）；
5. 根据两个相同样品稀释液A595值的平均值，在标准曲线上计算出该样品经过稀释后的蛋白质浓度，选择合适稀释度的样品计算最终的样品蛋白浓度，再由稀释倍数计算原样品蛋白质浓度。

C1. 酶标板法一（测定蛋白浓度在50-300 μ g/ml之间）

1. 选取酶标板上18个孔，分为标准组和样品组；
2. 标准组：14个孔，每个标准品设置1个重复，各孔分别加入20 μ l相应浓度的BSA标准蛋白质溶液；对应编号为0、7、8、9、10、11和12号；
样品组：剩余4孔，分为2个样品重复组，同一重复组编号相同。其中编号不同的两孔加入浓度不同的20 μ l样品稀释液；
3. 各酶标孔加入200 μ l Bradford工作液，迅速混匀；
4. 室温25~30 $^{\circ}$ C，反应5min后，以0号管为空白对照，在酶标仪上测各孔的A595值；
5. 以标准组各孔A595平均值为纵坐标，对应的蛋白质浓度为横坐标，在Microsoft Excel软件中绘制标准曲线（插入散点图，R²值大于0.99）；
6. 根据两个相同样品稀释液A595值的平均值，在标准曲线上计算出该样品经过稀释后的蛋白质浓度，选择合适稀释度的样品计算最终的样品蛋白浓度，再由稀释倍数计算原样品蛋白质浓度。

C2. 酶标板法二（测定蛋白浓度在5-30 μ g/ml之间）

1. 选取酶标板上18个孔，分为标准组和样品组：
标准组：14个孔，每个标准品设置1个重复，各孔分别加入150 μ l相应浓度的标准蛋白质溶液；对应管编号为0、1、2、3、4、5和6号；
样品组：剩余4孔，分为2个重复组，同一重复组编号相同。其中编号不同的两孔分别加入浓度不同的150 μ l样品稀释液；
2. 各酶标孔加入150 μ l Bradford工作液，迅速混匀；
3. 室温25~30 $^{\circ}$ C，反应5min后，以0号管为空白对照，在酶标仪上测各孔的A595值；
4. 以标准组各孔A595平均值为纵坐标，对应的蛋白质浓度为横坐标，在Microsoft Excel软件中绘制标准曲线（插入散点图，R²值大于0.99）；
5. 根据两个相同样品稀释液A595值的平均值，在标准曲线上计算出该样品经过稀释后的蛋白质浓度，选择合适稀释度的样品计算最终的样品蛋白浓度，再由稀释倍数计算原样品蛋白质浓度。

注意事项：

1. 使用前请将 Bradford 试剂颠倒混匀 3~5 次并平衡至室温后再使用；
2. 产品中的保存条件及有效期均以未开封情况下计算，为了防止产品与空气接触发生化学反应影响产品性能，将未使用完毕的组分按存储要求保存同时建议开封后的组分尽快使用完毕；
3. 该产品中包含配套的 BSA 标准蛋白溶液，由于 BSA 易受环境，人为，温度等因素的影响造成失效，建议收到货后将 BSA 溶液分成多个小管进行冷冻保存，避免反复冻融造成 BSA 降解失活；
4. 样品检测后的 A595 值应在标准曲线范围之内，若超过此范围则需将样品酌情稀释或浓缩；



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

5. 加完 Bradford 试剂后，须在 30min 内完成吸光度的测定，防止沉淀形成后影响实验结果，如果已经产生了沉淀，可以在测量前先颠倒混匀几次，可以减少误差；
6. 进行吸光度测定时，请使用玻璃或塑料比色皿，不建议使用石英比色皿，因为考马斯亮蓝会与石英发生化学反应，长时间使用影响比色皿的透光率及使用寿命，比色皿使用后请尽快用无水乙醇冲洗干净；
7. 疏水的膜或粘性蛋白在该 Bradford 试剂中，不容易产生沉淀，如果形成沉淀，也可以在样品溶液中加入等体积的 0.1M NaOH 促进蛋白溶解；
8. Bradford 法测定蛋白浓度不受还原试剂的影响，但是受略高浓度的去垢剂影响，需确保 SDS 低于 0.1%，Triton X-100 低于 0.1%，Tween 20、60、80 低于 0.06%，含去垢剂的样品推荐使用乐业生产的 BCA 法蛋白浓度测定试剂盒或非干扰型蛋白浓度测定试剂盒；
9. 测量顺序应按蛋白浓度由低到高的顺序（以避免影响结果）或使用一次性塑料比色皿；
10. 使用后请旋紧瓶盖，防止溶液挥发和与空气的物质发生化学反应。
11. 本试剂盒只能够用于体外实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等，由此产生的后果，概不承担责任。

保存条件：

Bradford 试剂在 2~8°C 环境中保存，BSA 蛋白质标准液（1mg/mL）在 -20°C 保存，保质期 2 年。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com