

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒 使用说明书

储存条件：蛋白标准液-20℃储存，其它组分常温储存，有效期 12 个月。

包装清单：

组分货号	产品组成	SK1060-2500T
SK1060-1	G-250 染色液（5×）	100 mL
SK1060-2	PBS 稀释液	30 mL
SL1060	BSA 蛋白标准液（5 mg/mL，单独包装）	1 mL
—	说明书	1 份

产品说明：

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

使用说明：

1. 取适量 BSA 蛋白标准液，用 PBS 稀释液稀释至终浓度为 0.5 mg/mL，即为 BSA 蛋白标样。
2. 取适量 G-250 染色液（5×），按 1:4 加水稀释成 1×G-250 染色液，需现配现用。
3. 将 BSA 蛋白标样，以及适当稀释的蛋白样品，按下表顺序加入 96 孔板中，标样需用 PBS 稀释液补足到 20 μL。每孔加入 1× G-250 染色液 200 μL，室温放置 3-5 min。

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
BSA 蛋白标样	0	1 μL	2 μL	4 μL	8 μL	12 μL	16 μL	20 μL	20 μL	...
PBS 稀释液	20 μL	19 μL	18 μL	16 μL	12 μL	8 μL	4 μL	0	样品	
1× G-250 染色液	200 μL									

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

4. 用酶标仪测定 A595 的吸光度，或选择 560-610 nm 之间波长。绘制标准曲线并计算出样品中的蛋白浓度。

注意事项：

1. G-250 染色液（5 $\times$ ）使用前请颠倒 3-5 次，混匀。
2. BSA 蛋白标准液请在完全溶解后先混匀，再稀释成 BSA 蛋白标样。
3. G-250 染色液恢复到室温再使用，有利于提高检测的灵敏度。
4. 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。

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 -mercaptoethanol	1 mM	1 M