

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

目录号: DEM183 规格: 1000T

产品描述:

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(Bradford Protein Assay Kit) 是根据最常用的两种蛋白浓度检测方法之一 Bradford 法研制而成, 实现蛋白浓度测定的快速、稳定和高灵敏度。

产品特点:

简单快速: 只需要一种反应试剂, 检测速度极快, 10-20 个样品只需不足 10 分钟即可完成。

灵敏度高: 检测浓度下限达到 $25\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 最小检测蛋白量达到 $0.5\mu\text{g}$, 待测样品体积为 $1-20\mu\text{l}$ 。

测量范围广: $50-1000\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 浓度内有较好的线性关系。

抗干扰能力强: 不受还原剂(如 DTT, 巯基乙醇)的影响。而且与一系列干扰 Lowry, BCA 反应的还原剂(如 DTT, 巯基乙醇)相容。样品中巯基乙醇的浓度可高至 1M , 二硫苏糖醇的浓度可高至 5mM 。

使用建议:

Bradford 法对于去污剂比较敏感, 需确保 SDS 低于 0.1% , Triton X-100 低于 0.1% , Tween 20, 60, 80 低于 0.06% 。含去垢剂的样品可使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒。

Bradford 染色液中考马斯亮蓝易聚集成团, 使用前请颠倒 6-8 次并竖直抓住瓶口做水平圈动作, 旋转瓶中液体, 充分混匀, 但不可以上下振荡混匀。

低温会降低 Bradford 染色液的敏感度, 因此每次使用前需将 Bradford 染色液恢复至室温。倒出每次需要的 Bradford 染色液, 原瓶放回冰箱, 减少复温时间。

蛋白标准请在全部溶解后先混匀, 再稀释成一系列不同浓度的蛋白标准。标准品曲线配制时, 吸量不准确或者加样枪不精确会造成标准曲线相关系数减小, 可根据需要使用倍比梯度稀释的方法, 或使用精确度高的加样枪。

由于 Bradford 法在蛋白浓度增高到一定时候, 颜色反应并不成比例增加, 因此得到的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。所测蛋白质浓度应确保处于标准曲线线性范围内, 否则测定结果将出现较大误差。每次测定蛋白样品时, 应做新的标准曲线。

反应在 5 分钟后显色充分, 10 分钟后开始出现沉淀, 建议在加入染色液后 5-10 分钟内完成检测, 误差较小。

若用玻璃比色杯, 可先甲醇冲洗, 然后用洗涤剂清洗, 最后用水和丙酮冲洗, 或浓盐酸浸泡过夜, 再用水洗净。

保存条件:

Bradford 染色液 4°C 保存, 蛋白标准 -20°C 保存, 本试剂盒自订购之日起九个月内有效。

产品包装:

产品组成	体积
蛋白标准 (2mg/ml BSA)	0.5ml×2
Bradford 染色液	100ml×2

使用方法:

1. 蛋白标准溶液准备:

取适量 $2\text{mg}/\text{ml}$ 蛋白标准, 稀释至 $0.5\text{mg}/\text{ml}$ 。例如, 取 $20\mu\text{l}$ $2\text{mg}/\text{ml}$ 蛋白标准, 加入 $60\mu\text{l}$ 稀释液, 配制成 $0.5\text{mg}/\text{ml}$ 蛋白标准。蛋白样品在什么溶液中, 标准品也宜用什么溶液稀释。为了简便起见, 也可 $0.9\%\text{NaCl}$ 或 PBS 稀释标准品。稀释后的蛋白标准也可 -20°C 长期保存。

2. 标准曲线制备和样品蛋白测定:

a. 标准曲线制备: 按下表在 96 孔板的样品孔中加入各种试剂, 加标准品稀释液补足至 $20\mu\text{l}$ 。然后加入 $200\mu\text{l}$ Bradford 染色液, 室温放置 3-5 分钟。

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
0.5mg/ml 蛋白标准 (μl)	0	1	2	4	8	12	16	20
标准品稀释液 (μl)	20	19	18	16	12	8	4	0
Bradford 染色液 (μl)	200	200	200	200	200	200	200	200

b. 样品蛋白测定: 在 96 孔板的样品孔中加适当体积的样品, 加标准品稀释液到 $20\mu\text{l}$ 。然后加入 $200\mu\text{l}$ Bradford 染色液, 室温放置 3-5 分钟。

3. 用酶标仪测定 A_{595} , 或 $560-610\text{nm}$ 之间的其它波长的吸光度。然后根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。