天净沙系列

CAT#:220958

低温运输，4℃保存

# 改良 Bradford 法蛋白定量试剂盒

Modified Bradford Method Protein Concentration Determination Kit

## 使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

Bradford 法测定蛋白质浓度是最为常用的蛋白检测方法之一，在酸性条件下，考马斯亮蓝（Coomassie G-250）染料能与蛋白质结合形成复合物，溶液由棕黑色转为蓝色，其最大吸光值也由 465 nm 转移到 595 nm，通过颜色的强弱即可测定蛋白质浓度的高低。SDS-PAGE 电泳凝胶是蛋白电泳的常用凝胶系统，为适配该系统，本品在经典 Bradford 法基础上做了改进，使其可以兼容一系列常见的去垢剂。它具有以下特点：

1. 便捷快速，10 个样品只需要 10 分钟即可完成测定。
2. 灵敏度高，最低测量蛋白量为 0.5 μg。
3. 线性范围在 0.1-1.5 mg/mL。
4. 即开即用，不需要单独购买每个成分再配制。
5. 不受绝大部分样品中的化学物质的影响。样品中β-巯基乙醇的浓度可高达 1 M，二硫苏糖醇的浓度可高达 50 mM。
6. 可以兼容受高浓度的去垢剂影响，可以适用于膜蛋白样品的浓度测定。蛋白样品中 SDS 浓度低于 0.1%，Titon X-100 浓度低于 1%，Tween 20，60，80 浓度低于 1%，NP-40 浓度低于 1%都可以定量。
7. 本产品可以进行 1000 次 96 孔板检测。
8. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品第一部分用大立盒包装，低温运输，4℃保存，有效期 6 个月。

| 成份 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 改良 Bradford 法蛋白定量溶液 | 220958a | 250 mL | 250 mL 本色瓶 |
| 使用手册 | 220958sc | 1 份 | 无 |

本产品第二部分用 logo 热封袋包装，低温运输，-20℃保存，有效期 6 个月。

| 成份 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 牛血清白蛋白(BSA)标准品，2 mg/mL | 220958b | 1 mL×2 | 1.5 mL 本色管 |

## 运输及保存

低温运输，4℃保存，其中牛血清白蛋白(BSA)标准品，2 mg/mL，低温运输，-20℃保存，有效期 6 个月。

## 自备试剂

超纯水、酶标仪

## 使用方法

1. 蛋白标准液的配置，将 2 mg/mL BSA 标准品按照下表进行稀释；

| 编号 | 稀释液体积(μL) | BSA 标准品体积(μL) | BSA 浓度(mg/mL) |
|---|---|---|---|
| A | 10 | 0 | 0 |
| B | 9.5 | 0.5 | 0.1 |
| C | 8.75 | 1.25 | 0.25 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| D | 7.5 | 2.5 | 0.5 |
| E | 6.25 | 3.75 | 0.75 |
| F | 5 | 5 | 1 |
| G | 2.5 | 7.5 | 1.5 |
| H | 0 | 10 | 2 |

2. 绘制标准曲线，取一块酶标板，按以下表格数据加入试剂；

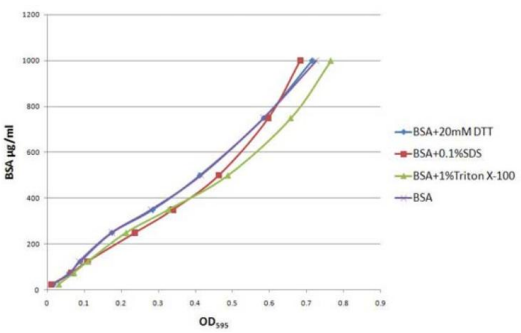
| 孔号 | A | B | C | D | E | F | G | H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BSA 标准品(μL) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 改良 Bradford 法<br>蛋白定量溶液(μL) | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 |
| 对应蛋白浓度(mg/mL) | 0 | 0.1 | 0.25 | 0.5 | 0.75 | 1 | 1.5 | 2 |

3. 混匀后，室温放置 5 min；
4. 用酶标仪测定 595 nm 处的吸光值，以不含 BSA 的光吸收值为空白对照；
5. 以 BSA 浓度(mg/mL)为横坐标，吸光值为纵坐标，绘制标准曲线；
6. 样品测定：将待测蛋白样品用稀释液稀释至适当浓度。取 5 μL 样品，加入 250 μL 改良 Bradford 法蛋白定量溶液，混匀后室温下孵育 5 min，测定样品在 595 nm 处的吸光值；
7. 拟合公式：
   1) 先用线性拟合，线性拟合公式为：$y = ax + b$
   2) 计算 $R^2$，若 $R^2 > 0.995$，则可以用线性拟合进行计算；若 $R^2 < 0.995$，则改用二次拟合
   3) 二次拟合公式为：$y=ax^2 + bx + c$

      y = 595 nm（$OD_{595}$，已扣空白）

      x = 蛋白浓度（mg/mL）
8. 计算蛋白浓度：以检测的样品蛋白的吸光值为 Y 值，带入标曲方程计算出 X 的值即为待测样品蛋白浓度。

本试剂盒蛋白标准曲线及其兼容性效果图如下



| | |
|---|---|
| | 注意事项：<br>1. 改良 Bradford 法蛋白定量溶液使用前请混匀。长时间放置会产生少量沉淀，使用前请充分混匀，避免影响检测准确性。<br>2. 根据当次实验所需用量吸取改良 Bradford 法蛋白定量溶液并放置到室温再进行检测，有利于提高检测的灵敏度。<br>3. 由于 Bradford 法在蛋白浓度增高到一定程度后，颜色反应并不成线性增加，因此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准确的蛋白浓度。<br>4. 改良 Bradford 法蛋白定量溶液反应 5 min 后显色充分，在 30 min 后可能开始出现沉淀，故建议在加入染色液后 5-30 min 内完成检测，误差较小。 |
| **关联产品** | Bradford 法蛋白浓度测定试剂盒 |