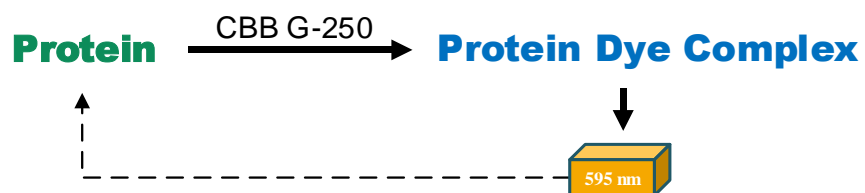




Bradford 法蛋白含量检测试剂盒
Bradford Protein Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



Bradford 法蛋白含量检测试剂盒

Bradford Protein Content Assay Kit

一、产品描述

Bradford 法测定蛋白质含量属于染料结合法的一种，考马斯亮蓝 G-250 染料与蛋白质能够在 2-5 min 内达到平衡，其结合物 1 h 内能够保持稳定，可以实现蛋白含量的快速、稳定和高灵敏度的检测。

考马斯亮蓝 G-250 染料游离状态下呈棕红色，与蛋白质结合后变为蓝色，染料的最大吸收峰由 465 nm 变为 595 nm，在一定浓度范围内蛋白质-染料复合物吸光值与蛋白质含量成正比，通过测定 595 nm 处吸光值的变化即可定量检测蛋白质的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
5×G-250 Dye Solution	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存
PBS Diluent	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存
BSA Standard Solution (5 mg/mL BSA)	液体 1 mL×1 支	-20°C 保存

三、产品使用说明

1. 分光光度计法

① 样本稀释：将样本按适当倍数稀释，建议多做几个梯度进行检测（可参考进行 2、4、8 倍稀释）；

② 1×G-250 Dye Solution 的制备：取 10 mL 5×G-250 Dye Solution（颠倒 3-5 次混匀），加入 40 mL 双蒸水，混匀即为 1×G-250 Dye Solution（4°C 可保存一周）；

③ 蛋白标准稀释液的制备：吸取 100 μL 5 mg/mL BSA Standard Solution，加入 2400 μL PBS Diluent（稀释液应与待测蛋白样品溶液一致，也可参考使用生理盐水作为稀释液），即为 0.2 mg/mL 蛋白标准稀释液。使用 0.2 mg/mL 蛋白标准稀释液，按下表进行梯度稀释：

编号	1	2	3	4	5	6
蛋白标准稀释液 (μL)	0	100	200	300	400	500
PBS Diluent (μL)	500	400	300	200	100	0
蛋白终浓度 (mg/mL)	0	0.04	0.08	0.12	0.16	0.20

④在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)
稀释样本	100	-
蛋白标准稀释液	-	100
1×G-250 Dye Solution	1000	1000
充分混匀，室温静置 3-5 min		

吸光值测定：测定 595 nm 处测定管和标准管吸光值，记为 A 测定和 A 标准。

标准曲线的建立及使用：以 0、0.04、0.08、0.12、0.16、0.20 mg/mL 为横坐标 (x)，对应的 A 标准为纵坐标 (y)，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 A 测定带入公式中计算 x (mg/mL)。

⑤检测方法：反应 3 min 后测 OD 值，为了实验的准确性，可每间隔 2 min 加一管染色液，每间隔 2 min 测一管 OD 值，可参照下表进行：

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	……
加染色液时间 (min)	0	2	4	6	8	10	12	14	……
测 OD 值时间 (min)	3	5	7	9	11	13	15	17	……

2.微孔酶标仪法

①样本稀释：将样本按适当倍数稀释，建议多做几个梯度进行检测(可参考进行 2、4、8 倍稀释)；

②1×G-250 Dye Solution 的制备：吸取 1 mL 5×G-250 Dye Solution (颠倒 3-5 次混匀)，加入 4 mL 双蒸水，混匀即为 1×G-250 Dye Solution (4°C 可保存一周)。

③蛋白标准稀释液的制备：取 10 μL 5 mg/mL BSA Standard Solution，加入 240 μL PBS Diluent (稀释液应与待测蛋白样品溶液一致，也可参考使用生理盐水作为稀释液)，即为 0.2 mg/mL 蛋白标准稀释液。使用 0.2 mg/mL 蛋白标准品稀释液，按下表进行梯度稀释：

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
蛋白标准稀释液 (μL)	0	2	4	6	8	12	16	20
PBS Diluent (μL)	20	18	16	14	12	8	4	0
蛋白终浓度 (mg/mL)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.12	0.16	0.20

④在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)
稀释样本	20	-
蛋白标准稀释液	-	20
1×G-250 Dye Solution	200	200

充分均匀，室温静置 3-5 min

吸光值测定：测定 595 nm 处测定管和标准管吸光值，记为 A 测定和 A 标准。

标准曲线的建立及使用：以 0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.12、0.16、0.20 mg/mL 为横坐标 (x)，对应的 A 标准为纵坐标 (y)，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 A 测定带入公式中计算 x (mg/mL)。

注意：移液器移取少量液体时的误差，可能会对标准曲线低浓度点造成影响，应使样品点落在标准线 1/2 后。

四、注意事项

① 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，样品中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，需确保样品中 SDS 浓度低于 0.1%，TritonX-100 低于 0.1%，Tween 20、60、80 低于 0.06%；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liangong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

