



5x Bradford蛋白浓度测定试剂盒

产品货号: QS05002

产品规格: 50mL, 100mL

产品简介:

Bradford法的检测原理是考马斯亮蓝(Coommassie Brilliant Blue)G-250与蛋白质的碱性和芳香族氨基酸特别是精氨酸(Arginine)在酸性介质中结合后, 溶液转变为蓝色, 溶液最大吸收峰从465nm迁移到595nm, 颜色的变化与蛋白质浓度成正比。因此, 可通过检测595nm处的吸光度对溶液中蛋白质浓度进行测定。

产品组成:

产品编号	产品名称	规格
QS05002	5x Bradford Reagent	100 mL
QS03011	牛血清白蛋白 (BSA) 标准溶液 (5mg/mL)	1 mL
QS05023	1x PBS溶液	50 mL

使用说明 (仅供参考):

一、微孔酶标仪法

- 1、完全溶解蛋白标准品, 取10 μ L, 稀释至250 μ L, 使终浓度为0.2mg/mL。待测蛋白样品在什么溶液中, 标准品也用什么溶液稀释。但是为了简便起见, 也可以用0.9%NaCl或PBS稀释标准品。
- 2、5x G250染色液使用前请上下颠倒数次, 取1mL 5x G250染色液, 加入4mL纯化水, 混匀成G250工作液, 此G250工作液可在4 $^{\circ}$ C保存一周。
- 3、将标准品按0、2、4、6、8、12、16、20微升分别加到96孔板中, 加PBS稀释液补足到20微升。
- 4、将样品作适当稀释 (最好多做几个梯度, 如作2倍、4倍、8倍稀释), 加20微升到96孔板的样品孔中。由于移液器在取小量时的误差, 标准线前面的点可能不很准确, 所以尽可能的让样品点落在标准1/2后。
- 5、各孔加入200微升稀释后的G250工作液, 室温放置3-5分钟。
- 6、用酶标仪测定A595, 或560-610nm之间的其它波长的吸光度。
- 7、根据标准曲线计算出样品的浓度。

二、分光光度计法

如无酶标仪, 染色反应可在离心管中进行, 反应液混匀后加入比色皿中, 使用分光光度计测定吸光值。

步骤如下:

- 1、取八支 (或者更多) 干净的10mL离心管, 标记上号。
- 2、取100 μ L BSA加入PBS 2.4mL稀释至终浓度为0.2mg/mL。
- 3、5x G250染色液使用前请上下颠倒数次, 取1mL 5x G250染色液, 加入4mL纯化水, 混匀成G250工作液, 此G250工作液可在4 $^{\circ}$ C保存一周。
- 4、按下表加入试剂 (以每孔5mL计, 多余的用来清洗比色皿)

离心管号	1	2	3	4	5	6	7 (样管1)
标准品BSA	0 μ L	100 μ L	200 μ L	300 μ L	400 μ L	500 μ L	500 μ L



PBS	500 μ L	400 μ L	300 μ L	200 μ L	100 μ L	0 μ L	0 μ L
G250工作液	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	

- 5、反应3分钟后测OD值。为了实验的准确性，可每间隔2分钟加一管染色液，每间隔2分钟测一管OD值。

离心管号	1	2	3	4	5	6	7	8
加染色剂 (分钟)	0	2	4	6	8	10	12	14
测OD值 (分钟)	3	5	7	9	11	13	15	17

保存条件：

5x Bradford Reagent和PBS溶液4℃贮存；牛血清白蛋白标准溶液-20℃贮存；。

本试剂盒有效期1年。