



Bradford 快速蛋白定量试剂盒

目录号：ZD302 版本：2014-7-1

试剂盒内容：

试剂盒组成	ZD302-1 (150 次)	ZD302-2 (300 次)	ZD302-3 (600 次)
1、Bradford 储存液	10ml	20ml	40ml
2、Bradford 稀释液	180ml	2×180ml	3×240ml
3、BSA 标准蛋白溶液 (1mg/ml)	1ml	2ml	2×1.5ml
4、产品使用说明书	1 份	1 份	1 份

储存条件：

试剂置于室温 (15~25℃) 干燥条件下可保存 12 个月；更长时间的保存可置于 2-8℃。试剂盒中的 **BSA 标准蛋白溶液** (1mg/ml) 室温运输，2-8℃短期保存，-20℃长期保存。

产品简介：

Bradford 法是一种迅速、可靠的通过染色法测定溶液中蛋白质的方法。Bradford 染色剂在一定浓度的乙醇及酸性条件下，可配成淡红色的溶液，当与蛋白质结合后，产生蓝色化合物，反应迅速而稳定。反应化合物在 465~595nm 处有最大的光吸收值，化合物颜色的深浅与蛋白浓度的高低成正比关系，因此可检测 595nm 的光吸收值的大小计算蛋白的含量。尽管相对来说此法的干扰物质较少，但因染料与不同的纯化蛋白质的相互作用有强有弱，因此这也不是一种严格的定量方法。

产品特点：

- **缺点：**1) 对各种纯化蛋白质反应不同；
2) 用这种测定方法对蛋白质引起不可逆的变性。
- **灵敏度范围：**蛋白质溶液 25ug/ml ~ 200ug/ml。
- **最小测量体积：**0.1ml。
- **最小测量蛋白量：**2.5ug。

注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 如果干扰 Bradford 法检测的干扰物质超过此法的可接受浓度，可用 TBS 缓冲液或 PBS 缓冲液稀释。
2. 在反应 5min 后充分显色，但在 10~15min 后开始出现沉淀，尤其是高浓度蛋白质溶液在酸性条件下易发生沉淀。在 10min 之内测完标准品和样品，则颜色损失误差将会小于 2%。
3. 推荐使用一次性的塑料比色杯，因为比色杯壁着色后很难洗静。
4. 如果用玻璃比色杯，可先用甲醇冲洗，然后用玻璃制品清洁剂洗涤最后用水和丙酮冲洗，或者在浓 HCl 中泡过夜。
5. 如果样品的光吸收值超过线性范围，可用 Bradford 工作液稀释样品至 5ml 后再测定空白也进行同样体积的稀释。
6. 不同的纯化蛋白质测量结果不同，如果用目的蛋白来做标准曲线或用另一种方法来校正，则所测蛋白质浓度较准确。
7. 尽管牛血清白蛋白 (BSA) 和染料的反应并不是很精确，BSA 常被用来做标准曲线，卵白蛋白是另一种可用来做标准曲线的蛋白。
8. 放置较久的试剂产生的光吸收值较低。

实验准备：

1. 配制 **Bradford 工作液**：用户根据自己每次实验所需 Bradford 工作液的用量，按 Bradford 稀释液：Bradford 储存液=47：3 的比列新鲜配制混匀；然后采用离心的办法（或滤纸过滤）将粗杂质去掉，随后于室温下避光保存，可使用 2-3 周，但在使用前最好再用离心法（或滤纸过滤）过滤色素沉淀。

注意：配成的 **Bradford 工作液**为棕黑色，与蛋白结合后生成蓝色物质。

2. 准备至少两个玻璃比色杯（一个用于 BSA 标准蛋白溶液的显色反应；另一个用于待测蛋白样品的显色反应）或一次性塑料比色杯（聚苯乙烯制作）若干（约 17 个）。

操作步骤：

1. 将分光光度计开机预热，至少 20 分钟，使其光源的辐射强度达到稳定！

2. 标准样品与检测样品的处理：

注 1： 如果推荐的标准曲线设计方案的浓度范围和梯度都较大，则标准曲线为非直线，只能用于粗略估计！需要精确定量则应该在相差 10ug 以下范围内设计蛋白含量梯度为 2.5ug 或更低的标准曲线。如：估计蛋白浓度在 50-60ug 之间，则可以选取 50ug,52ug,54ug,56ug,58ug,60ug 几个点做标准曲线。或精确稀释 3 个以上平行样品到一个已测好的精确度高的标准曲线内，测量后取平均值。

注 2： Bradford 法所测定的标准曲线在 2.5-15ug BSA 浓度范围内保持线性关系；因此，样品需要精确测定时，务必将样品稀释到此范围内检测。

检测绘制标准曲线：2.5-15ug BSA 浓度范围内标准曲线

(1) 孔号	0 空白	1	2	3	4	5	6	7
蛋白标准 (μL)	0	2.5	2.5	5	5	7.5	7.5	10
去离子水 (μL)	100	97.5	97.5	95	95	92.5	92.5	90
蛋白含量 (μg)	0	2.5	2.5	5	5	7.5	7.5	10

(1) 孔号	8	9	10	11	12	13	14	15	16
蛋白标准 (μL)	10	12.5	12.5	15	15	17.5	17.5	20	20
去离子水 (μL)	90	87.5	87.5	85	85	82.5	82.5	80	80
蛋白含量 (μg)	10	12.5	12.5	15	15	17.5	17.5	20	20

- a) 试剂盒中配备的 BSA 标准蛋白溶液采用去离子水配制！
- b) “**实验用缓冲液**”主要是指用户溶解待测蛋白样品的溶液(或某种缓冲液，如 PBS 缓冲液等。)!
- c) 标准曲线客户亦可自行设计。

检测样品：将适当体积的样品加入到试管中，并用**实验用缓冲液**补足到 100 μl；
(空白为 100μl **实验用缓冲液**)。

3. 向各试管中加入 1 ml **Bradford 工作液**，振荡混匀，室温放置 2 分钟；
4. 用分光光度计测定 595 nm 处的吸光值，并记录读数。
5. 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。如果所得到的蛋白浓度不在标准曲线范围内，请稀释后重新测定。

数据处理可以采用 EXCEL 绘制 X-Y 散点图。添加趋势线获得标准曲线方程。可以到我公司网站下载 excel 文件模板

<http://www.zomanbio.com/download.php?id=7>