

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

货号: PC0010

规格: 100T (2500 微孔)

保存: 2-8℃保存, 有效期 1 年。(附件: 蛋白标准(5mg/mL BSA) (FJPC0010), 收到后请在-20℃保存)。

产品内容:

组成	包装 (2500 微孔)	保存
5×G250 染色液	100mL	2-8℃
PBS 稀释液	30mL	2-8℃
蛋白标准(5mg/mL BSA)	1mL	-20℃

产品简介:

考马斯亮兰 G-250 染料, 在酸性溶液中与蛋白质结合, 使染料的最大吸收峰的位置(λ_{max}), 由 465nm 变为 595nm, 在一定的浓度范围内, 测定的吸光度值 A_{595} 与蛋白质浓度成正比。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 1M, 二硫苏糖醇的浓度可高达 5mM, 但受略高浓度的去垢剂影响, 需确保 SDS 的浓度低于 0.1%, Triton X-100 低于 0.1%, Tween 20, 60, 80 低于 0.06%。含去垢剂的样品推荐使用索莱宝生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒。

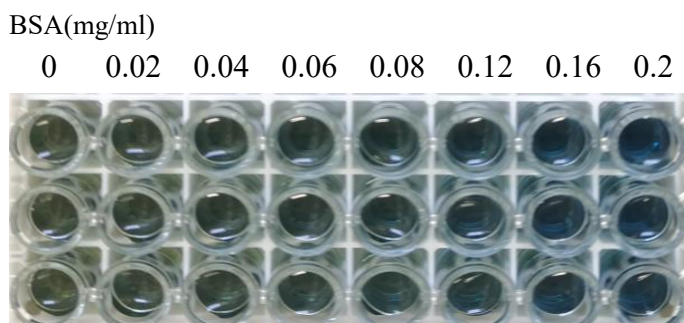
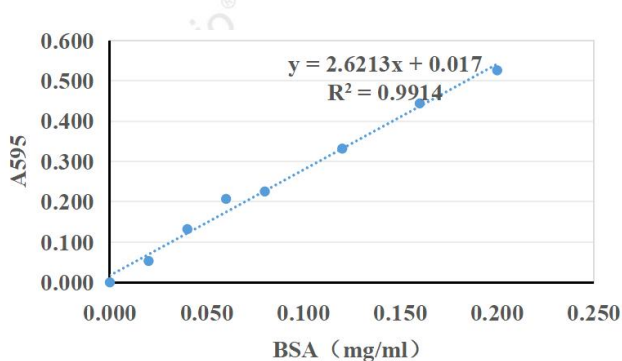


图 1, 左图为微孔板法检测标准曲线, 横轴为不同浓度梯度标准品, 纵轴为对应 595nm 处吸光值。右图为不同浓度梯度标准品实际的显色效果。注: 图中数据仅供参考, 以实际检测结果为准。

操作说明 (仅供参考):

一. 微孔酶标仪法

1. 完全溶解蛋白标准品, 取 10μL, 稀释至 250μL, 使终浓度为 0.2mg/mL。待测蛋白样品在什么溶液中, 标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见, 也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 稀释标准品。

2. 5×G250 染色液使用前请颠倒 3-5 次混匀, 取 1mL 5×G250 染色液, 加入 4mL 双蒸水, 混匀成 1×G250 染色液, 此 1×G250 染色液可在 4℃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，相当于标准品浓度分别为 0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.12、0.16、0.2mg/ml

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线 1/2 后。

5. 各孔加入 200 微升稀释后的 1×G250 染色液，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中的蛋白浓度。

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 100μLBSA 加入 PBS 2.4mL 稀释至终浓度为 0.2mg/mL。

3. 5×G250 染色液使用前请颠倒 3-5 次混匀，取 10mL 5×G250 染色液，加入 40mL 双蒸水，混匀成 1×G250 染色液，此 1×G250 染色液可在 4℃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)，前 6 管对应的标准品浓度分别为 0、0.04、0.08、0.12、0.16、0.2mg/ml

离心管号	1	2	3	4	5	6	7 (样品管 1)	8 (样品管 2)	9 (样品管 3)
标准蛋白 BSA	0μL	100μL	200μL	300μL	400μL	500μL	500μL 适当稀释的样品 1	500μL 适当稀释的样品 2	
PBS	500μL	400μL	300μL	200μL	100μL	0μL	0μL	0μL	0μL
1XG250 染色液	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL	5mL

5. 反应 3 分钟后测 A595，或 560-610nm 之间的其它波长的 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。如下表：

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

相关产品：

PC0001	BSA 标准品 5mg/mL
PC0015	5×G250(蛋白定量用)
PC0021	BCA 试剂
PC0030	Lowry 法蛋白浓度测定试剂盒
PC0020	BCA 法蛋白浓度测定试剂盒
R0010	高效 RIPA 组织/细胞快速裂解液
PR1600	预染低分子量蛋白 MARKER

相关文献：

- [1] Zhongyuan Li,Xiumei Li,Tianhui Liu,et al. The critical roles of exposed surface residues for the thermostability and halotolerance of a novel GH11 xylanase from the metagenomic library of a saline-alkaline soil. International Journal of Biological Macromolecules. July 2019;133:316-323. (IF 4.784)
- [2] Qinlu Zhang,Qian Liu,Menghan Du,et al. Cetuximab and Doxorubicin loaded dextran-coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as novel targeted nanocarriers for non-small cell lung cancer. Journal of Magnetism and Magnetic Materials. June 2018. (IF 3.046)

