

## Bradford 蛋白浓度测定试剂盒使用说明书

### 【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5002	Bradford Protein Assay Kit	2000T
EK-5002A	G250 染色液 (Bradford Reagent)	500ml
EK-5002B	蛋白标准液 BSA 5mg/ml	1ml
	使用说明书	1 份

### 【保存条件】

BSA 存于-20°C，其它试剂 4°C保存稳定 12 个月。

### 【概述】

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 $\lambda_{max}$ 位置 (Imax)，由 465nm 变为 595nm，在一定的浓度范围内，测定的吸光度值 A595 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%。

### 【使用方法】

#### 1. 蛋白标准液的准备

a. 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，如果蛋白样品所在溶液不含有干扰本试剂盒检测的物质，也可以用 0.9%NaCl、PBS 或水稀释标准品。蛋白标准液(5mg/ml BSA)如果冻存，请完全融化并混匀后使用。

b. 按照下表配制 0、0.125、0.25、0.5、0.75、1、1.5mg/ml 蛋白标准。每次稀释时注意充分混匀。如果有必要可以增加设置 0.0625mg/ml 的蛋白标准。

编号	稀释液体积	标准品体积	最终浓度
A	70 $\mu$ l	5mg/ml BSA 30 $\mu$ l	1.5mg/ml
B	30 $\mu$ l	从 A 管取 60 $\mu$ l	1mg/ml
C	20 $\mu$ l	从 B 管取 60 $\mu$ l	0.75mg/ml

D	30 $\mu$ l	从 C 管取 60 $\mu$ l	0.5mg/ml
E	60 $\mu$ l	从 D 管取 60 $\mu$ l	0.25mg/ml
F	60 $\mu$ l	从 E 管取 60 $\mu$ l	0.125mg/ml
G	60 $\mu$ l	0 $\mu$ l	0mg/ml

## 2. 蛋白浓度测定

- 取 5 $\mu$ l 不同浓度蛋白标准加到 96 孔板的蛋白标准孔中。
- 取 5 $\mu$ l 样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 5 $\mu$ l，需加标准品稀释液补足到 5 $\mu$ l。请注意记录样品体积。
- 各孔加入 250 $\mu$ l G250 染色液。
- 用酶标仪测定 A595，或 560-610nm 之间的其它波长的吸光度。可以立即测定吸光度，也可以在 2 小时内测定，2 小时内检测数据无显著变化。
- 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品中的蛋白浓度。

### 【注意事项】

- 本品 BSA 因每次使用量较小，推荐分装使用。
- 不同 96 板的吸收值会有不同，得到 OD 有区别为正常现象（保证数据呈线性关系）
- 请使用 96 孔底部透明板（如普通细胞培养板）检测，最佳波长为 595nm。
- 将 G250 染色液回复至室温后使用，有利于提高检测灵敏度。
- 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。