

M5 5x Bradford Protein Assay Kit Bradford

蛋白定量试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 5x Bradford Protein Assay Kit	100ml	MF425-01
M5 5x Bradford Protein Assay Kit	5x100ml	MF425-05

【储存条件】

4°C 保存

【产品简介】

Bradford 蛋白定量试剂盒系根据 Bradford 染料结合原理，利用考马斯亮蓝 G-250 染料可与蛋白质结合（主要结合碱性或芳香族氨基酸残基），形成蓝色复合物的特性，通过测定样品在 595 nm 波长下的吸光值，并同 BSA 标准品所绘制的定量标准曲线做比对，即可计算出待测样品的蛋白质浓度。该方法可测定分子量在 3000 以上的多数蛋白和多肽浓度，具有灵敏度高、操作简便、快速、价格低廉等特点，是目前实验室最常用的蛋白质粗略定量方法。由于 Bradford 测定法会受样品中的一些试剂，特别是去垢剂的干扰（见附表），故使用时应先排除干扰因素。

【产品组份】

组份	总量	保存条件
5x Bradford Protein Assay Reagent	100 ml (约500次标准法)	4°C或室温保存一年
BSA Protein Standard (10 mg/ml)	2 ml	-20°C保存一年；4°C保存六个月

【使用方法】

I. 比色杯法

A. 标准法 (线性范围：100~1000 µg/ml；反应总体积：1.02 ml)

1. 制备1x Bradford工作液：根据标准品和待测样品的数量，用去离子水将适量的5x Bradford Protein Assay Reagent按 1:5 稀释；
2. 配制BSA Protein Standard反应溶液：用去离子水将BSA Protein Standard稀释成不同浓度（如：0, 100, 200, 400, 800, 1000 µg/ml），以制作标准曲线；
3. 分别取20 µl各个待测样品或步骤[2]中所配制的BSA Protein Standard稀释液与1 ml 1x Bradford工作液均匀混合，加入比色杯中；
4. 室温静置5分钟（注：请勿超过1小时）；
5. 使用分光光度计检测BSA Protein Standard的 595 nm吸光值并绘出标准曲线；
6. 检测待测样品的 595 nm吸光值，并依据步骤[5]所绘出的标准曲线换算出待测蛋白样品的浓度。

B. 微量法 (线性范围：1~20 µg/ml；反应总体积：1 ml)

1. 配制BSA Protein Standard反应溶液：用去离子水将BSA Protein Standard稀释成1 mg/ml；按下表配制不同浓度的BSA Protein Standard，以制作标准曲线；

BSA终浓度 (µg/ml)	0	1	5	10	15	20
5 x Bradford Protein Assay Reagent (µl)	200	200	200	200	200	200
1 mg/ml BSA (µl)	0	1	5	10	15	20
ddH ₂ O (µl)	800	799	795	790	785	780

2. 配制待测样品反应溶液：取出适量待测样品加入洁净的比色杯中，并加入200 µl 5x Bradford Protein Assay Reagent，然后

用去离子水将反应总体积补足至1 ml;

样品编号	1	2	3
样品体积 (μl)	X	Y	Z
5x Bradford Protein Assay Reagent (μl)	200	200	200
ddH ₂ O (μl)	800-X	800-Y	800-Z

- 将步骤[1][2]所配制的反应溶液均匀混和后, 室温静置5分钟 (注: 请勿超过1小时)
- 使用分光光度计检测BSA Protein Standard的595 nm吸光值并绘出标准曲线;
- 检测待测样品的595 nm吸光值, 并依据步骤[4]所绘出的标准曲线换算出待测样品的蛋白质浓度。

II. 96孔板法

A. 标准法 (线性范围: 40~500 μg/ml; 反应总体积: 210 μl)

- 制备1x Bradford工作液: 根据标准品和待测样品的数量, 用去离子水将适量5x Bradford Protein Assay Reagent按1:5稀释;
- 配制BSA Protein Standard反应溶液: 用去离子水将BSA Protein Standard稀释成不同浓度 (如: 0, 50, 150, 250, 350, 450 μg/ml), 以制作标准曲线;
- 分别取10 μl各个待测样品或步骤[2]中所配制的BSA Protein Standard稀释液与200 μl 1x Bradford工作液均匀混合, 加入96孔板中;
- 室温静置5分钟 (注: 请勿超过1小时);
- 使用酶标仪检测BSA Protein Standard的595 nm吸光值并绘出标准曲线;
- 检测待测样品的595 nm吸光值, 并依据步骤[5]所绘出的标准曲线换算出待测蛋白样品的浓度。

B. 微量法 (线性范围: 1~20 ug/ml; 反应总体积: 200 ul)

- 配制BSA Protein Standard反应溶液: 用去离子水将BSA Protein Standard稀释成1 mg/ml; 按下表配制不同浓度的BSA Protein Standard, 以制作标准曲线;

BSA终浓度 (μg/ml)	0	2.5	5	10	15	20
5x Bradford Protein Assay Reagent (μl)	40	40	40	40	40	40
1 mg/ml BSA (μl)	0	0.5	1	2	3	4
ddH ₂ O (μl)	160	159.5	159	158	157	156

- 配制待测样品反应溶液: 取出适量待测样品加入干净的比色杯中, 并加入40 μl 5x Bradford Protein Assay Reagent, 然后用去离子水将反应总体积补足至1 ml;

样品编号	#1	#2	#3
样品体积 (μl)	X	Y	Z
5x Bradford Protein Assay Reagent (μl)	40	40	40
ddH ₂ O (μl)	160-X	160-Y	160-Z

- 将步骤[1][2]所配制的反应溶液均匀混和后, 室温静置5分钟 (注: 请勿超过1小时);
- 使用酶标仪检测BSA Protein Standard的595 nm吸光值并绘出标准曲线;
- 检测待测样品的595 nm吸光值, 并依据步骤[4]所绘出的标准曲线换算出待测样品的蛋白质浓度。

【附表】样品中所含化学物质的可接受浓度

化学物质	β-mercaptoethanol	DTT	HEPES	KCl	NaCl	Triton X-100
可接受浓度	1 M	5 mM	0.1 M	1 M	5 M	0.1 %
化学物质	NH ₄ SO ₄	SDS	Tris	MgCl ₂	Urea	Tween-20, 60, 80
可接受浓度	1 M	0.1 %	2 M	1 M	6 M	0.015 %

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。