



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

Bradford Protein Assay Kit

Ver. 620664

名称	货号	规格
Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	RTP7101	1000 次（微孔板）

● 试剂盒内容及保存:

货号	产品名称	包装	贮存方式
RTP7101-01	考马斯亮蓝 G-250 染色液	200 ml	4℃
BSA-01	牛血清白蛋白(BSA)标准溶液（5 mg/ml）	2×1 ml	-20℃
RT0280-02	PBS 溶液	10 ml	4℃
	说明书	1 份	

● 储存条件和效期:

考马斯亮蓝 G-250 染色液 4℃ 避光保存；牛血清白蛋白标准溶液 -20℃ 贮存。PBS 溶液 4℃ 贮存。试剂盒常温运输；本试剂盒有效期 1 年。

● 产品简介:

Bradford 蛋白质浓度测定试剂盒是根据考马斯亮蓝 G-250（Coomassie brilliant blue G-250）法研制而成，其原理是考马斯亮蓝 G-250 在酸性条件下和蛋白质结合，使得染料最大吸收峰从 465 nm 变为 595 nm，在一定的线性范围内，反应液 595 nm 处吸光度的变化量与反应蛋白量成正比，测定 595 nm 处吸光度的增加即可进行蛋白定量。

每个试剂盒可以检测 1000 个样品（使用微孔板）或 60 个样品（使用试管）

● 产品特点:

1. 检测速度极快，10 个样品只需不足 10 分钟即可完成。
2. 灵敏度高，检测浓度下限可达 25 $\mu\text{g/ml}$ （测定浓度范围在 25-1000 $\mu\text{g/ml}$ 内有较好的线性关系，最佳测定浓度范围为 50-750 $\mu\text{g/ml}$ ），最小检测蛋白量可达 0.5 μg ，待测样品体积为 1-20 μl 。
3. 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 β -巯基乙醇的浓度可高达 1 M，DTT 的浓度可高达 5 mM。然而，此方法测定蛋白浓度受高浓度的去垢剂影响，故不能适用膜蛋白样品的浓度测定。需确保测定样品中 SDS 浓度低于 0.01%，Triton X-100 浓度低于 0.05%，Tween 20, 60, 80 浓度低于 0.015%。测定含去垢剂的样品推荐使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（RTP7102）。

● 操作方法

微孔板测定程序：（最优工作范围 50-750 $\mu\text{g/ml}$ ）

1. G-250 染液在使用前应平衡温度至室温并温和颠倒混匀；
2. 1 mg/ml 蛋白标准品配制：常温完全溶解蛋白标准品，取 25 μl 5mg/ml BSA 蛋白标准溶液，加入 100 μl PBS 溶液，使其终浓度为 1 mg/ml。
3. 按照下表配制 BSA 标准测定溶液，建议做 3 个重复：

编号	0	1	2	3	4	5	6	7
	1 mg/ml BSA 标准溶液 μl							
BSA 标准溶液 μl	0	1	1.5	2	3	6	10	15
PBS 溶液 μl	20	19	18.5	18	17	14	10	5
BSA 终浓度 $\mu\text{g/ml}$	0	50	75	100	150	300	500	750
总体积	20 μl							

4. 将适当体积的待测样品加入到微孔板中，并用 PBS 补足到 20 μl ；
5. 向微孔板中加入 200 μl G-250 染色液，混匀，室温放置 5 分钟；
6. 测定 595 nm 处的吸光值，并记录读数；以不含 BSA 的样品的光吸收值作为空白对照。
7. 以 BSA 含量为纵坐标 A_{595} 读数为横坐标，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，请稀释样品后重新测定。

试管测定程序：（最优工作范围 50-750 $\mu\text{g/ml}$ ）

1. G-250 染液在使用前应平衡温度至室温并温和颠倒混匀；
2. 1mg/ml 蛋白标准品配制：室温完全溶解蛋白标准品，取 360 μl 5mg/ml BSA 蛋白标准溶液，加入 1440 μl PBS 溶液，使其终浓度为 1.0 mg/ml。
3. 按照下表配制 BSA 标准测定溶液，建议做 3 个重复：

编号	0	1	2	3	4	5	6	7
	1 mg/ml BSA 标准溶液 μl							
BSA 标准溶液 μl	0	10	15	20	30	60	100	150
PBS 溶液 μl	200	190	185	180	170	140	100	50
BSA 终浓度 $\mu\text{g/ml}$	0	50	75	100	150	300	500	750
总体积	200 μl							

4. 将适当体积的待测样品加入到试管中，并用 PBS 补足到 200 μl ；
5. 向试管中加入 3ml G-250 染色液，混匀，室温放置 3-5 分钟；
6. 测定 595 nm 处的吸光值，并记录读数；以不含 BSA 的样品的光吸收值作为空白对照。
7. 以 BSA 含量为纵坐标 A_{595} 读数为横坐标，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，请稀释样品后重新测定。

实验示例：

