

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒 (去垢剂兼容型) 使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5004	Detergent Compatible Bradford Protein Assay Kit	1000T/5000T
EK-5004A	G250 染色液 (去垢剂兼容型)	2×125ml/1250ml
EK-5004B	蛋白标准液 BSA 20mg/ml	1ml/5ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4°C 保存, 有效期 1 年

【概述】

考马斯亮兰 G-250 染料, 在酸性溶液中与蛋白质结合, 使染料的最大吸收峰的位置 (I_{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。

本试剂盒和常规的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒相比可以兼容一系列常见的去垢剂, 和 BCA 法相比, 能兼容高浓度的还原剂, 并且检测速度极快, 在检测含去垢剂样品蛋白浓度时, 比 BCA 法更加便捷。生命科学研究中的很多蛋白样品都是含有去垢剂的, 因此常规 Bradford 法的使用受到了很大的限制, 通常只能使用可以兼容去垢剂但检测比较耗时的 BCA 法。如果使用本试剂盒, 不仅能兼容去垢剂, 而且由于能立即显色, 检测速度会比 BCA 法快很多。当蛋白样品中同时含有一定浓度的去垢剂和还原剂时, 常规的 Bradford 法和 BCA 法就都不能使用了, 而本试剂盒仍然是可以检测的。

本试剂盒测定蛋白浓度时不受较高浓度去垢剂的影响, 可以很好地兼容 1% Triton X-100、1% Tween 20、1% SDS、1% NP-40 和 1% Brij35 等去垢剂。本试剂盒检测灵敏度高, 最小蛋白检测量达到 0.5 μ g。

【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(20mg/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	92.5 μ l	20mg/ml BSA 7.5 μ l	1.5mg/ml
B	30 μ l	从 A 管取 60 μ l	1mg/ml
C	20 μ l	从 B 管取 60 μ l	0.75mg/ml
D	30 μ l	从 C 管取 60 μ l	0.5mg/ml
E	60 μ l	从 D 管取 60 μ l	0.25mg/ml
F	60 μ l	从 E 管取 60 μ l	0.125mg/ml
G	60 μ l	0 μ l	0mg/ml

2. 蛋白浓度测定

- 取 10 μ l 不同浓度蛋白标准加到 96 孔板的蛋白标准孔中。
- 取 10 μ l 样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 10 μ l, 需加标准品稀释液补足到 10 μ l。请注意记录样品体积。
- 各孔加入 250 μ 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, 也可以在最长 2 小时内测定, 一般来说 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。
- 为了您的安全与健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。