



# Super-Bradford Protein Assay Kit

## Super-Bradford蛋白定量试剂盒

**目录号：** CW0013S (800 microplate assays or 100 tube assays)

**保存条件：** 2-8℃

### 产品内容

Component	CW0013S 800 microplate assays or 100 tube assays
Bradford Protein Assay Reagent	2×100 ml
BSA Standard Solution ( 2mg/ml )	2 ml

## 产品简介

Bradford法是最简单和快速的比色蛋白定量方法。其原理是考马斯亮蓝G-250与蛋白质结合后，产生蓝色化合物，化合物颜色的深浅与蛋白浓度的高低成正比关系，因此可通过检测595 nm的最大光吸收值的大小来计算蛋白的含量。本产品将传统的Bradford方法进行了改良，最大限度的加大蛋白定量的线性范围，灵敏度范围为100-1,500  $\mu\text{g/ml}$ 。使用本产品反应迅速，颜色产物1小时内保持稳定。适用于多种缓冲液系统。

## 注意事项

1. BSA标准品的稀释液需与待测样品的稀释液一致（可用1×PBS或0.9%生理盐水进行稀释）。
2. 本试剂盒不适合含有去污剂的蛋白定量，具体干扰物质（具体见附表1），可采用BCA蛋白定量试剂盒（CW0014）或其他蛋白定量产品。
3. 所测蛋白分子量必须大于3 kD。
4. 操作中请佩戴手套。
5. 本产品仅限科研使用。

## 操作步骤

1. 稀释BSA标准品：用与待测蛋白样品相一致的稀释液按下表稀释BSA标准品。

管号	稀释液用量 ( $\mu\text{l}$ )	BSA标准品用量 ( $\mu\text{l}$ )	BSA标准品最终浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )
A	0	100	2,000
B	50	150	1,500
C	200	200	1,000
D	200	200（从C管中取）	500
E	200	200（从D管中取）	250
F	200	200（从E管中取）	125
G	200	0	0(空白)

## 2. 试管检测（检测范围：100-1500 $\mu\text{g/ml}$ ）

- 1) 按上表稀释标准品，将30  $\mu\text{l}$ 稀释好的BSA标准品分别加到作好标记的试管中。
- 2) 取干净的试管，分别加入30  $\mu\text{l}$ 待测蛋白样品(原液或稀释液)，并作好标记，推荐每个测定做2-3个平行反应。
- 3) 向步骤1) 和步骤2) 的试管中各加入1.5 ml Bradford Protein Assay Reagent，充分混匀，室温放置10分钟。
- 4) 用分光光度计测定595 nm处的吸光值。
- 5) 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

**注意：数据处理时需要去除明显错误的值。未知样品浓度可以从标准曲线中查得，实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。如果是计算机绘制的曲线，可以从计算机给出的线性方程式计算出未知样品的浓度。**

6) 如果所得到的蛋白浓度不在检测范围内，请重新稀释样品后再次测定。

## 3. 微孔检测（检测范围：100-1500 $\mu\text{g/ml}$ ）

- 1) 将按表1稀释好的A-G BSA标准品和待测蛋白样品（原液或稀释液）各5  $\mu\text{l}$ 分别加到作好标记的96孔板微孔中。
- 2) 每孔加入250  $\mu\text{l}$  Bradford Protein Assay Reagent，充分混匀，盖上96孔板盖，室温放置10分钟。
- 3) 用酶标仪测定595 nm处的吸光值。
- 4) 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

**注意：数据处理时需要去除明显错误的值。未知样品浓度可以从标准曲线中查得，实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。如果是计算机绘制的曲线，可以从计算机给出的线性方程式计算出未知样品的浓度。**

5) 如果所得到的蛋白浓度不在检测范围内，请重新稀释样品后再次测定。

## 附表

附表1. 干扰物质表

化合物	耐受浓度	化合物	耐受浓度
缓冲液		去垢剂和变性剂	
乙酸盐	0.6M	Brij35	干扰
甘氨酸	0.1M	脱氧胆酸钠	0.25%
HEPES	0.1M	CHAPS	1%
MES	0.7M	NP-40	干扰
MOPS	0.2M	辛葡糖	2%
Na <sup>+</sup> -柠檬酸	50mM	SDS	0.1%
PIPES	500mM	Tween-20	干扰
磷酸钠/磷酸钠	1M	Triton X-100	0.1%
乙酸钠	0.6M	糖类	
Tris	2M	蔗糖	1mM
盐类		螯合剂	
硫酸铵	1M	EDTA	100mM
NaCl	1M	EGTA	50mM
尿素	6M		
极性化合物		其他	
甘油	99%	HCl	0.1M
还原剂		NaOH	0.1M
$\beta$ -巯基乙醇	1M	NAD	1mM
DTT	1M	苯	5%

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及和其他用途