

版本号: PA210831

Bradford Protein Assay Kit

Bradford蛋白质定量试剂盒

目录号: PA102

产品内容

产品组成	PA102
考马斯亮蓝染液 (CBB Staining Solution)	300 ml
牛血清白蛋白BSA标准溶液 (BSA Standard Solution (1 mg/ml))	10×1 ml

储存条件

考马斯亮蓝染液2-8℃避光保存, 可保存一年; 牛血清白蛋白(BSA)溶液-30~-15℃保存, 可保存一年。

产品简介

Bradford蛋白质定量试剂盒是根据目前世界上常用的蛋白浓度检测方法—考马斯亮蓝G-250 (Coomassie brilliant blue G-250) 法研制而成, 实现了蛋白浓度测定的快速、稳定和高灵敏度。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。本试剂盒含配制好的考马斯亮蓝染液和牛血清白蛋白(BSA)溶液作为蛋白质标准溶液, 测定范围为50 -1000 μg/ml。

注意事项 在使用本试剂盒之前请务必阅读此注意事项。

1. 考马斯亮蓝染液与石英比色皿可以产生强烈的结合，因此建议使用玻璃或塑料比色皿。
2. 疏水的膜或“粘”蛋白在考马斯亮蓝染液存在下可以形成沉淀，可以使用少量的NaOH促进蛋白的溶解。(在这种情况下向样品中加入等体积的1 M NaOH)
3. 由于不同蛋白与考马斯亮蓝染液的结合程度不同，因此使用被测蛋白做标准曲线，可以得到更准确的结果。
4. 应按蛋白浓度由低到高的顺序进行测定，测定过程请连续进行，不要清洗比色皿，因为水质会影响测定结果。

操作步骤

1. 考马斯亮蓝染液在使用前应平衡温度至室温并温和颠倒混匀，预热分光光度计；
2. 将0、10、20、30、40、50、60 μl 牛血清白蛋白(BSA)标准溶液（1 mg/ml）分别加入到试管中，加入PBS补足到150 μl ；
3. 将适当体积的样品加入到试管中，并用PBS补足到150 μl ；
4. 向各试管中加入2.85 ml考马斯亮蓝染液，混匀，室温放置5-10 min；
5. 用分光光度计测定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。
6. 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。
7. 若用微孔板检测按上述体系比例缩小10倍操作即可。

附：PBS配方

PBS缓冲液(pH7.2-7.4)：137 mmol/L NaCl，2.7 mmol/L KCl，10 mmol/L Na_2HPO_4 ，1.76 mmol/L KH_2PO_4 。
