

Bradford蛋白定量试剂盒

产品货号: 26130

产品规格: 500T/1000T/2500T

产品简介:

目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法是: BCA蛋白定量试剂盒(BCA Protein Assay Kit)和Bradford蛋白定量试剂盒(Bradford Protein Assay Kit), Bradford法与传统方法相比,更简单、更稳定、兼容性更好,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 -巯基乙醇的浓度高达1M,DTT的浓度高达5mM,但本法受高浓度去垢剂的影响明显,故在用Bradford Protein Assay Kit进行蛋白定量时需确保SDS低于0.01%,TritonX-100低于0.05%,Tween20/60/80低于0.015%,含高浓度去垢剂的蛋白定量,建议采用BCA Protein Assay Kit。

Bradford Protein Assay Kit检测原理是在酸性乙醇溶液中考马斯亮蓝G250与蛋白结合颜色由棕色变为蓝色,在595nm有最大吸收值,检测速度很快,少量样品一般只需10min即可完成检测,检测浓度下限达到25 μ g/ml,最小检测蛋白量达到0.5 μ g,待测样品体积为1~20 μ l,在50~1000 μ g/ml浓度范围内有较好的线性关系。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	500T	1000T	2500T	保存条件
试剂(A): G250染色液	100ml	200ml	500ml	室温
试剂(B): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	室温
试剂(C): 蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	室温

自备材料:

1. 酶标仪或分光光度计、96孔板或比色杯、电子天平、研钵或匀浆器、离心机、离心管。
2. 蒸馏水、0.9%NaCl 或 PBS。

操作步骤(仅供参考):

1. 样品蛋白质的提取: 称取新鲜绿豆芽下胚轴(或小麦叶片)0.5~1.0g 放入研钵中,加 2mL 蒸馏水研磨成匀浆,转移到离心管中,再用 6mL 蒸馏水分次洗涤研钵,洗涤液收集于同离心管中,在室温(20~25 $^{\circ}$ C)下放置 0.5~1h 以充分提取,然后 4000r/min 离心 20min 去沉淀,上清液转入 10mL 容量瓶,以蒸馏水定容至刻度,即得待测样品提取液。
2. 取 1ml 蛋白标准配制液完全加入到含有 20mg 的蛋白标准(BSA)中,充分溶解,后配制成 20mg/ml 的蛋白标准溶液,配制后可立即使用,配制的蛋白标准溶液应-20 $^{\circ}$ C保存。
3. 取适量的 20mg/ml 蛋白标准,用蛋白标准稀释液稀释至终浓度为 500 μ g/ml 或所需浓度,如取 25 μ l 20mg/ml 蛋白标准,加入 975 μ l 蛋白标准稀释液,充分混匀,即配制成 500 μ g/ml 蛋白标准溶液。特别提示:待测蛋白溶解于什么样的稀释液中,蛋白标准也宜溶解于什么样的稀释液中,例如待测蛋白溶解于蔗糖中,亦取 20mg/ml 蛋白标准溶解于蔗糖中;一般也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 作为溶解 BSA 稀释液,稀释后的 500 μ g/ml 蛋白标准溶液也应-20 $^{\circ}$ C长期保存。
4. 将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μ l 加到 96 孔板或 EP 管中,加蛋白标准稀释液补足至 20 μ l。
5. 加适当体积样品到 96 孔板或 EP 管中,补蛋白标准稀释液至 20 μ l。
6. 各孔加入 200 μ l G250 染色液,室温放置 3~5min。
7. 酶标仪或分光光度计测定 595nm 波长处的吸光度,560~610nm 之间的波长也可,根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

注意事项:

1. G250 染色液回复至室温充分混匀后使用, 有利于提高检测的灵敏度, 加完 G250 染色液后, 尽量在 30min 内完成吸光度的测定, 防止沉淀形成后影响实验结果。
2. 蛋白标准在全部溶解后先混匀, 再稀释成一系列不同浓度的蛋白标准。
3. 待测蛋白溶解于什么样的稀释液中, 蛋白标准也应溶解于什么样的稀释液中, 否者待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致, 有可能导致测定不准确。
4. 建议每次测定时都做标准曲线, 因为测定时颜色会随着时间的延长不断加深, 并且显色反应的速度和温度有关, 所以除非精确控制显色反应的时间和温度, 否则如需精确测定应每次都做标准曲线。
5. 没有酶标仪, 也可使用分光光度计测定, 但应考虑比色杯的最小检测体积, 需按比例适当加大 G250 染色液、样品和标准品的用量使总体积不小于最小检测体积, 使用分光光度计测定蛋白浓度时, 每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
6. 用比色杯测定蛋白含量时, 由于考马斯亮蓝易结合石英比色杯, 应优先选用一次性塑料比色杯, 如用玻璃比色杯, 比色完毕应立即用乙醇清洗干净。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

12个月有效, 蛋白标准配制成溶液后应-20℃冻存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com