



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（去垢剂兼容型）

Bradford Protein Assay Kit (Detergent Compatible)

产品编号	产品名称	包装
RTP7104	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒（去垢剂兼容型）	800 次

● 试剂盒内容及保存：

货号	产品名称	包装	贮存方式
RTP7104-01	考马斯亮蓝 G-250 染色液（去垢剂兼容型）	250 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（去垢剂兼容型）4℃贮存；牛血清白蛋白标准溶液-20℃贮存。PBS 溶液 4℃贮存。本试剂盒有效期 1 年。试剂盒常温运输。

● 产品简介：

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型)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 465nm 变为 595nm，在一定的线性范围内，反应液 595nm 处吸光度的变化量与反应蛋白量成正比，测定 595nm 处吸光度的增加即可进行蛋白定量。该试剂盒进行了优化，能兼容一系列常见去垢剂和一定浓度的还原剂，并且检测数据有很好的线性关系。本试剂盒的性能不仅优于常规的 Bradford 法，和 BCA 法相比也更加快速便捷。

蛋白研究中许多蛋白样品都是含有去垢剂，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。但 BCA 法无法兼容还原剂。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 法都无法使用，而本试剂盒仍然是可以检测的。试剂盒兼容蛋白提取的多种裂解液，包括 Western 及 IP 细胞裂解液、RIPA 裂解液、NP-40 裂解液、SDS 裂解液等。

按照每个 10 μl 样品使用 300 μl 染色液计算，试剂盒可以至少检测 800 个样品。

● 产品特点：

1. 检测速度快，10-20 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 μg/ml（测定浓度范围在 50-1000 μg/ml 内有较好的线性关系），最小检测蛋白量可达 0.5 μg。
3. 该试剂盒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。同时，此方法测定蛋白浓度可以兼容受高浓度的去垢剂影响，可以适用于膜蛋白样品的浓度测定。蛋白样品中 SDS 浓度低于 1%，Triton X-100 浓度低于 1%，Tween

20, 60, 80 浓度低于 1%，NP-40 浓度低于 1% 都可以定量。

● **操作方法：**

用前注意事项：

蛋白标准请全部溶解混匀后再使用。

需可检测 560-610 nm 之间波长的酶标仪一台，最佳检测波长为 595 nm。并需 96 孔微孔板。

微孔板测定程序：（最佳工作范围 50-1000 $\mu\text{g/ml}$ ）

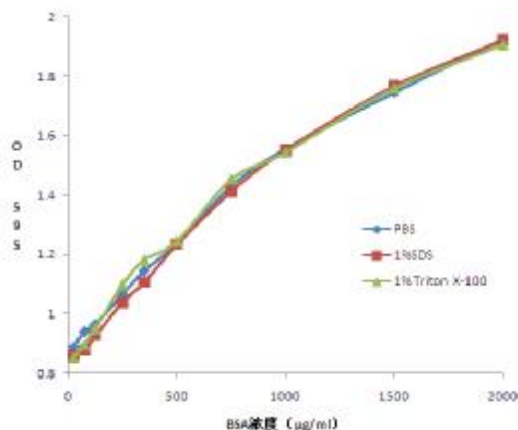
1. G-250 染液在使用前应平衡温度至常温并温和颠倒混匀。
2. 1 mg/ml 蛋白标准品配制：常温完全溶解蛋白标准品，取 20 μl 5 mg/ml BSA 蛋白标准溶液，加入 80 μl PBS 溶液，使其终浓度为 1 mg/ml。
3. 按照下表配制 BSA 标准测定溶液：

编号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
	1 mg/ml BSA 标准溶液 μl								
BSA 标准溶液 μl	0	0.5	1.5	2.5	5.0	7.5	10	15	20
PBS 溶液 μl	20	19.5	18.5	17.5	15	12.5	10	5	0
BSA 终浓度 $\mu\text{g/ml}$	0	25	75	125	250	350	500	750	1000
总体积 μl	20 μl								

4. 取 **10 μl** 不同浓度蛋白标准加入到 96 孔微孔板的蛋白标准孔中。
5. 将适当体积的待测样品加入到微孔板中，如果样品不足 10 μl ，用 PBS 补足到 10 μl ；
6. 向微孔板中加入 **300 μl** G-250 染色液，混匀，常温放置 3-5 min。
7. 用酶标仪测定 A_{595} 波长的吸光度，以不含 BSA 的样品的光吸收值作为空白对照。可以立即测定吸光度，也可以在 30 分钟内测定，30 分钟内检测数据无显著变化。对于不含去垢剂和含有某些去垢剂的情况，在 2 小时内检测数据无显著变化；对于含有某些特定去垢剂的情况，在 2 小时内检测数据会有一些的变化，但仍然会呈现较好的线性关系。
8. 以 A_{595} 为纵坐标，BSA 含量为横坐标，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。

注：如使用分光光度计测定，可根据实际需要扩大溶液体积，保证蛋白标准溶液和蛋白样品与 G-250 染液的体积比为 10:300，例如，如果需要 1.5 ml，可取蛋白样品 50 μl ，G-250 染液试剂 1.5 ml。

● **实验示例：**



试剂盒对常见去垢剂的兼容性