



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## Bradford 蛋白定量试剂盒

### 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 $\beta$ -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%, Triton X-100 低于 0.05%, Tween20/60/80 低于 0.015%, 含高浓度去污剂的蛋白定量,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 $\mu$ g/ml,最小检测蛋白量达到 0.5 $\mu$ g,待测样品体积为 1~20 $\mu$ l,在 50~1000 $\mu$ 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。

### 组成:

名称 \ 编号	R21252	R21252	R21252	Storage
	500T	1000T	2500T	
试剂(A): G250 染色液	100ml	200ml	500ml	RT
试剂(B): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	RT
试剂(C): 蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	RT
使用说明书	1 份			

### 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、



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

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℃)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 10 mL 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℃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 500µg/ml 或所需浓度, 如取 25µl 20mg/ml 蛋白标准, 加入 975µl 蛋白标准稀释液, 充分混匀, 即配制成 500µg/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 500µg/ml 蛋白标准溶液也应-20℃长期保存。

4、将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20µl 加到 96 孔板或 EP 管中, 加蛋白标准稀释液补足至 20µl。

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 20µl。

6、各孔加入 200µl 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。

### 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,



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

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。

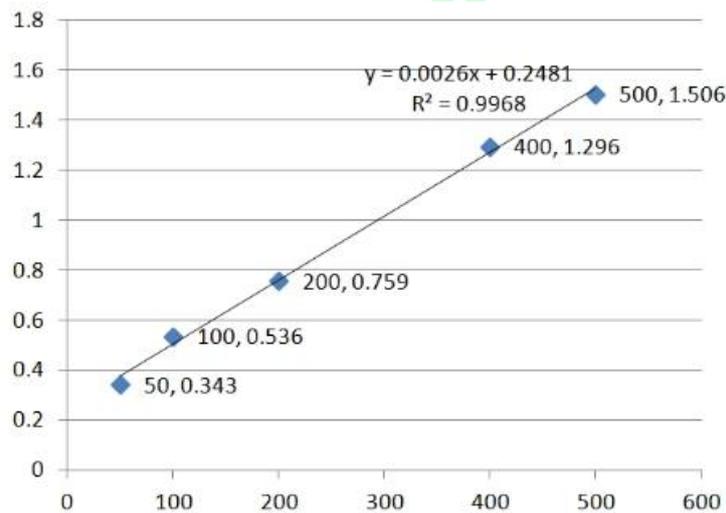
7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:** 12 个月有效，蛋白标准配制成溶液后应-20℃冻存。

**附录:** 标准曲线制作: 源叶生物在室温条件下, 按说明书操作, 对系列标准进行吸光度的测定, 其数值及标准曲线如下(仅供参考), 我们建议采用 50、100、200、300、400、500 $\mu\text{g}/\text{ml}$  的蛋白标准绘制标准曲线(标准品浓度过高或过低都有可能影响标准曲线的准确性):

蛋白标准( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	25	50	100	200	300	400	500
吸光度	0.191	0.343	0.536	0.759	1.120	1.296	1.509

注意: 对于 10~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$  范围内的蛋白样品, 要充分考虑如 SDS、Tween、Triton 等干扰因素, 其检测结果波动较大, 标准品亦有波动, 请注意小心精细操作。



(注: 蛋白标准在 25 和 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$  时吸光度偏差较大应舍弃)