



## 蛋白定量试剂使用说明书

### 【产品名称】

产品通用名称：蛋白定量试剂

产品商用名称：**Bradford法蛋白定量试剂盒**

### 【包装规格】

PP1101 ( 250 次 ) / PP1102 ( 1000 次 ) / PP1103 ( 2500 次 )

### 【检验原理】

Bradford 法蛋白浓度定量试剂盒是在世界上常用的蛋白浓度检测方法之一 Bradford 法基础上（考马斯亮蓝结合显色法）改进而成，当 Bradford 染色液（考马斯亮蓝）和蛋白在酸性条件下结合时，最大吸光值波长立刻由 465 nm 转移至 595nm，同时颜色由褐色转为蓝色，通过测定吸光值大小并对照标准蛋白的吸光值，推算出蛋白浓度。

### 【产品特点】

1. 灵敏度高，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。
2. 检测速度极快，10-20 个样品只需不足 10 分钟即可完成。
3. 在 50-1000 $\mu$ g/mL 浓度范围内有较好的线性关系。

### 【主要组成成分】

试剂盒由蛋白标准（5mg/mL BSA），Bradford 染色液，使用说明书和合格证组成。主要组分及储存条件见表 1。

表 1 试剂盒组成、储存

试剂盒组成	PP1101	PP1102	PP1103	保存
蛋白标准（5mg/mL BSA）	0.25mL	1mL	1.5mL $\times$ 2	-20 $^{\circ}$ C
Bradford 染色液	50mL	200mL	500mL	4 $^{\circ}$ C

## 【储存条件及有效期】

- 1、蛋白标准 ( 5mg/mL BSA ) 在-20℃条件下保存；Bradford 染色液在 4℃条件下保存。
- 2、本产品有效期为一年，请在有效期内使用。。
- 3、为了避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

## 【使用方法】

1. 取10 $\mu$ L蛋白标准品(5mg/mL BSA) 稀释至100 $\mu$ L，使终浓度为0.5mg/mL。蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，也可以用0.9%NaCl或PBS稀释标准品。
2. **将稀释后标准品 ( 0.5mg/mL BSA )** 按0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 $\mu$ L分别加到酶标板中，加标准品稀释液将所有标准品**补足到20 $\mu$ L**。
3. 加适当体积样品到酶标板孔中，加标准品稀释液到**20 $\mu$ L**。
4. 各孔加入**200 $\mu$ L** Bradford染色液，轻轻用加样枪吹打混匀（注意不要弄出气泡影响读数）室温放置3-5分钟。
5. 用酶标仪测定A595，或570-610nm之间的其它波长的吸光度。
6. 根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

## 【注意事项】

1. Bradford染色液含有刺激性或者腐蚀性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
2. Bradford染色液中考马斯亮蓝易聚集成团，每次使用前请颠倒6-8次并且竖直抓住瓶口做水平划圈动作，旋转瓶中液体，帮助充分混匀，但不可以上下振荡混匀。
3. 低温会降低bradford染色液的敏感度，因此每次使用前应该使bradford染色液恢复到室温，可以倒出每次需要的bradford染色液，将原瓶放回冰箱，仅仅将需要的bradford染色液复温，可以减少复温时间。。
4. 标准品稀释时，如果吸量不准确或者加样枪不精确会造成标准曲线相关系数减小，可根据需要使用倍比梯度稀释的方法来稀释，或者使用精确度高的加样枪。
5. 由于 bradford法在蛋白浓度增高到一定时候，颜色反应并不成比例增加，因此得到的标准曲线只是在一定范围内可以近似看成直线，每次应按照实际测得的标准曲线计算出大致精确的蛋白浓度。
6. 需要酶标仪一台，最佳检测波长为595nm，也可以在570-610nm之间波长测定，但会

降低一些敏感度。并需酶标板。如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但是测定蛋白浓度时，需根据测定吸光度的杯子的体积，按比例调整bradford染色液和样品的体积。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。

7. 不同于一些其它蛋白浓度测定方法（包括Lowry法），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。样品中巯基乙醇的浓度可高达1M，二硫苏糖醇的浓度可高达5mM。但受略高浓度的去垢剂影响。需确保SDS低于0.125%，Triton X-100 低于0.125%，Tween 20低于0.06%，可以考虑用超纯水稀释，透析/除盐，ACETONE/TCA沉淀蛋白后重溶于超纯水等方法来消除干扰物质的影响。

#### **【生产企业】**

企业名称：无锡百泰克生物技术有限公司

注册地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区

生产地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区

邮政编码：214100

电话/传真：400-678-8982

网址：[www.bioteke.cn](http://www.bioteke.cn)

#### **【说明书核准及修改日期】**

说明书修改日期 2019 年 01 月 15 日