**Bradford Protein Quantification Kit MG1003**

****

**Technical literature is available at:** [**www.mesgenbio.com**](http://www.mesgenbio.com)**. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com**

**产品简介**

Bradford蛋白浓度测定法是目前常用的灵敏度较高的蛋白浓度测定方法之一。它是根据Bradford染液（考马斯亮蓝G250染料）与蛋白结合，使染料的最大吸收峰从A456变为A595，且测定的吸光值与蛋白浓度成正比关系的原理而设计。本试剂盒通过吸光值计算蛋白浓度，实现了蛋白浓度测定的快速性和简便性。且灵敏度高，比Lowry法大约高四倍，最低蛋白检测量可达1μg。测定速度快、简单，且不受大多数样品中化学试剂的影响。在50-1000μg /ml的浓度范围内具有较好的线性关系。

**试剂盒组成**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **产品组成** | **500 tests** | **1000 tests** |
| **G250染色液** | 1×100mL | 2×100mL |
| **蛋白标准品（BSA 1 mg/ml）** | 2×1.0mL | 4×1.0mL |

**操作方法**

**1.** 蛋白标准品的准备

完全融化蛋白标准品，取50μl稀释至100μl，使终浓度为**0.5mg/ml**。

**【注】：**标准品稀释液为蛋白样品的溶解液，原则上蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。例如0.9%的NaCl或1×PBS进行稀释。

**2.** 蛋白浓度测定

a. 将标准品按0、1、2、4、8、12、16、20μl加到96孔板的标准品孔中，加标准品稀释液补足到**20μl**，相当于标准品浓度分别为0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5μg/μl。

**表：BSA标准品体系配制**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Vial** | **稀释液体积(μl)** | **0.5mg/ml BSA体积(μl)** | **BSA终浓度(μg/μl)** |
| A | 20 | 0 | 0 |
| B | 19 | 1 | 0.025 |
| C | 18 | 2 | 0.05 |
| D | 16 | 4 | 0.1 |
| E | 12 | 8 | 0.2 |
| F | 8 | 12 | 0.3 |
| G | 4 | 16 | 0.4 |
| H | 0 | 20 | 0.5 |

b. 加适当体积样品到96孔板的样品孔中。如果样品不足20μl，需加标准品稀释液补足到**20μl**。请注意记录样品体积。

c. 各孔加入**200μl G250**染色液，室温放置**2**分钟。

d. 用分光光度计或者酶标仪测定**595nm处**的吸光度。根据BSA标准品的吸光度（减去标准品中空白孔的OD值即最终的读数），绘制标准曲线（**X-蛋白浓度μg/μl**；**Y-最终的OD595nm**）。

e. 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品中的蛋白浓度。

**注意事项**

1. G250染色液须恢复到室温后再使用，有利于提高检测灵敏度。并且使用前颠倒几次以充分混匀。

2. 最佳检测波长为595nm。为得到更精确的结果，每个蛋白梯度和样品均需做复孔。

3. Bradford法测定蛋白浓度对大多数化学物质的兼容性较好，比如对还原剂DTT的兼容性高达5mM。但会受略高浓度的去垢剂影响。因此我们建议SDS低于0.01%，Triton X-100低于0.05%，Tween 20/ 60/80低于0.015%等。对于含去垢剂的样品，建议使用BCA蛋白定量检测试剂盒【货号：MG1002】。

4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**储存条件**

G250染色液4℃保存，蛋白标准品-20℃保存，有效期一年。

**仅供科学研究，不得用于临床治疗**