

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

MESGEN[™]
INNOVATION BIOTECHNOLOGY

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OD_{595nm}）。

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