

产品简介

Bradford法(考马斯亮蓝法),是目前灵敏度最高的蛋白质浓度测定方法之一。当Bradford染色液(考马斯亮蓝G250)和蛋白在酸性条件下结合时,溶液颜色由棕黑色转为蓝色,最大吸光值波长由456 nm转为595 nm,吸光值与蛋白质的含量在一定浓度范围内有较好的线性关系。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,实现了蛋白浓度测定的快速,稳定和高灵敏度。Bradford染色液为2倍浓缩母液,便于储存。

产品组成

组 分	E111-01 500 rxn	E111-02 1000 rxn
BSA Standard (1 mg/ml)	2 × 1 ml	2 × 1 ml
2 × Bradford Reagent	50 ml	100 ml

储存条件

2 × Bradford Reagent 2~8℃保存, BSA Standard -30~-15℃保存。2 × Bradford Reagent 于2~8℃运输, BSA Standard于-20~0℃运输。

使用方法

A. 96孔酶标板测定:

1. 标准曲线绘制。取一块酶标板,按以下表格数据加入试剂:

孔号	0	1	2	3	4	5	6
蛋白标准 (μl)	0	1	2	4	6	8	10
去离子水 (μl)	100	99	98	96	94	92	90
2 × Bradford Reagent (μl)	100	100	100	100	100	100	100
对应的蛋白含量 (μg)	0	1	2	4	6	8	10

2. 振荡混匀后,室温放置5-10 min。

3. 用酶标仪测定A595 nm处的吸光值,以不含BSA的光吸收值为空白对照。

4. 以蛋白含量 (μg)为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线。

5. 样品测定:将待测蛋白样品用去离子水稀释至适当浓度。取10 μl样品,加入100 μl 2 × Bradford Reagent和90 μl的去离子水,混匀后放置5-10分钟,然后以0号孔为对照,测定样品在A595 nm处的吸光值。

6. 根据测得的吸光值,在标准曲线上即可查得样品的蛋白含量。

7. 计算蛋白浓度:以查得的蛋白含量除以样品体积10 μl,再乘以相应的稀释倍数即可得到待测样品的实际浓度。

B. 比色皿测定

按照比色皿规格,与以上方法相同,适当按比例增加各溶液体积即可。

注意事项

1. Bradford法对去污剂敏感,受高浓度去垢剂影响。需确保SDS浓度低于0.1%, Triton X-100低于0.2%, Tween-20低于0.1%, NP-40低于0.1%。含去垢剂的样品推荐使用BCA蛋白浓度测定试剂盒(Vazyme # E112)和Bradford耐去垢剂型蛋白浓度测定试剂盒(Vazyme # E211)。

2. 染色液使用前请混匀。

3. 将染色液放置到室温再使用,有利于提高检测的灵敏度。

4. 由于Bradford法在蛋白浓度增高到一定程度后,颜色反应并不成线性增加,因此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相对精确的蛋白浓度。

5. 反应在5分钟后显色充分,在10分钟后可能开始出现沉淀。故建议在加入染色液后5-10分钟内完成检测,误差较小。

6. 推荐使用塑料比色皿。如使用玻璃比色皿或石英比色皿,使用后立即用少量95%的乙醇清洗。



企业已通过ISO 9001:2015
国际质量管理体系认证