

Bradford Protein Quantification Kit (Detergent Compatible)

说明书

Cat. No.: EZ1301

一、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 转移为 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，即可推算出样品的蛋白浓度。本试剂盒 Bradford Protein Quantification Kit (Detergent Compatible)和常规的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒相比，可以兼容一系列常见的去垢剂（如 SDS、Triton X-100、Tween-20 等），同时兼容多种常见蛋白裂解液（如 RIPA 裂解液、NP-40 裂解液等），克服了 Bradford 法对去垢剂敏感的缺点，并具有检测速度快、稳定和灵敏度高等特点，大大提高了 Bradford 法蛋白浓度测定的适用范围。

二、产品组分

组分	货号(规格)	EZ1301-T (50 Tests)	EZ1301 (500 Tests)
EZ-Bradford Reagent (Detergent Compatible)		15 ml	150 ml
BSA Standard (20 mg/ml)		100 µl	1 ml

三、保存条件

EZ-Bradford Reagent (Detergent Compatible)建议置于 4℃ 保存，BSA Standard (20 mg/ml)建议置于-20℃ 保存，可稳定保存 12 个月。过期日期详见产品标签中有效期信息。

四、注意事项

- BSA Standard (20 mg/ml)请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。
- 将 EZ-Bradford Reagent (Detergent Compatible)恢复到室温（15 ~ 25℃）再使用，有利于提高检测的灵敏度。
- 需要可检测 560 ~ 610 nm 之间波长的酶标仪一台，最佳检测波长为 595 nm；并需自备 96 孔板。
- 反应在 10 min 后反应充分，时间过长可能会有沉淀，建议在 30 min 内完成检测。
- 测量范围为 25 ~ 2000 µg/ml，可根据待测样品浓度调整标准曲线浓度范围。
- 本产品为去垢剂兼容型，可耐受 4% SDS，4% Triton X-100 以及 RIPA，NP-40，Western 等常见蛋白裂解液。
- 为了您的安全和健康，请穿戴实验服、一次性乳胶手套和一次性口罩。

五、操作步骤

1. 蛋白标准品的准备

1.1 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，如果蛋白样品所在溶液不含有干扰本产品检测的物质，可以用 PBS 稀释标准品。BSA Standard (20 mg/ml) 如果冻存，请完全融化并混匀后使用。

1.2 按照下表配制蛋白标准。每次稀释时注意充分混匀。

编号	稀释液体积	标准品体积	最终浓度
A	90 μ l	10 μ l	2000 μ g/ml
B	25 μ l	从 A 管取 75 μ l	1500 μ g/ml
C	33 μ l	从 B 管取 66 μ l	1000 μ g/ml
D	33 μ l	从 C 管取 66 μ l	750 μ g/ml
E	33 μ l	从 D 管取 66 μ l	500 μ g/ml
F	50 μ l	从 E 管取 50 μ l	250 μ g/ml
G	50 μ l	从 F 管取 50 μ l	125 μ g/ml
H	80 μ l	从 G 管取 20 μ l	25 μ g/ml
J	100 μ l	0 μ l	0 μ g/ml

2. 蛋白浓度测定

a. 96 孔酶标板测定

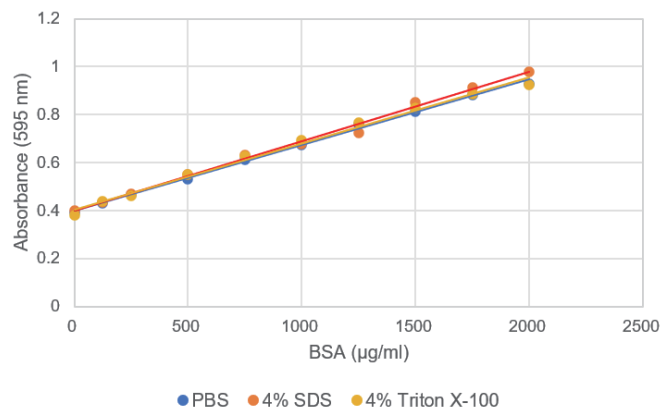
- ① 取 5 μ l 不同浓度蛋白标准加到 96 孔板的蛋白标准孔中。
- ② 取 5 μ l 样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 5 μ l，需加标准品稀释液补足到 5 μ l。请注意记录样品体积。
- ③ 各孔加入 250 μ l EZ-Bradford Reagent (Detergent Compatible)。
- ④ 室温震荡孵育 10 min。
- ⑤ 用酶标仪测定在 595 nm 处的吸光度。
- ⑥ 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品中的蛋白浓度。

b. 标准比色皿测定

- ① 各取 20 μ l 不同浓度标准品和待测样品加入到比色皿中。
- ② 加入 1 ml EZ-Bradford Reagent (Detergent Compatible)。
- ③ 混匀，室温孵育 10 min。
- ④ 将分光光度计设定到 595 nm，用装满水的比色皿对仪器校零，测定所有样本的吸光度。
- ⑤ 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。

六、代表性实验结果

使用本试剂盒对于常见去垢剂的兼容性测试，结果如下：



结果表明，本试剂盒可以兼容常见的去垢剂，在较为宽广的浓度范围（25 ~ 2000 µg/ml）内均保持良好的线性关系。

七、附录

A. 以下是 Bradford Protein Quantification Kit (Detergent Compatible) 的兼容成分及浓度上限：

成分	兼容浓度
SDS	4%
Triton X-100	4%
Tween-20	2%
DTT	5 mM
2-Mercaptoethanol	1 M
DMSO	10%
甘油	10%
尿素	3 M

B. 以下是 Bradford Protein Quantification Kit (Detergent Compatible) 兼容的多种裂解液及其成分：

裂解液	成分
RIPA (强)	50 mM Tris (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin
RIPA (中)	50 mM Tris (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin
RIPA (弱)	50 mM Tris (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.25% sodium deoxycholate, sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin
NP-40 裂解液	50 mM Tris (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40, sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin
Western 细胞裂解液	20 mM Tris (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, EDTA, Na_3VO_4 , leupeptin