

上海生物样本库
最佳实践规范及标准操作流程
文件汇编
(第二版)

2010年5月

上海生物样本库				
质量管理体系文件				
文件名称	Bradford 法蛋白质检测操作规程		编号	SOP-TQ-019-01
批准人		批准日期	实施日期	

Bradford 法蛋白质检测操作规程

1. 目的

规定了 Bradford 法蛋白质检测的操作。

2. 适用范围

适用于从人体体液、细胞、组织等样本中提取和纯化的蛋白质样本的使用 Bradford 法的检测。

3. 定义和术语

无

4. 职责

4.1 样本库实验人员负责 Bradford 法的蛋白质检测工作。

5. 设备和器材

分光光度计

6. 正文

6.1 检测原理

Bradford 法，使用考马斯亮蓝 G-250 染料，在酸性溶液中与蛋白质结合，使染料最大吸收峰由 465nm 转为 595nm，溶液颜色由棕黑色变为蓝色。

BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响，但受 Triton X-100，SDS 和 0.1M 氢氧化钠和去污剂的影响。

6.2 试剂标准

考马斯亮蓝溶液、1mg/ml 标准蛋白（BSA）溶液、去离子水。

6.3 检测

6.3.1 紫外分光光度计开机预热 10min。从冰箱中取出考马斯亮蓝溶液，平

衡至室温并混匀。

6.3.2 准备标准溶液和检测溶液

序号	去离子水 (ul)	标准蛋白质 (ul)	蛋白质样品 (ul)	考马斯亮蓝溶液 (ml)
1	100	0	0	3
2	90	10	0	3
3	80	20	0	3
4	60	40	0	3
5	40	60	0	3
6	20	80	0	3
7	0	100	0	3
8	0	0	100	3
9	0	0	100	3

6.3.3 溶液混匀后测定分光光度计在 595nm 的数值。1 号最为空白对照，2-7 号制作标准曲线，样品取 8, 9 的平均值。

6.3.4 根据标准曲线计算蛋白质样品的浓度。

7. 相关文件

无

8. 参考标准与文献

无