

総タンパク質定量試薬[Bradford]

Cat No. KY-1020

【目的・用途】

Bradford 法に基づいた、溶液中の総タンパク質濃度を正確に定量できる試薬です。Bradford 法は Coomassie brilliant blue G250(CBB-G250)を用いた色素結合法で、遊離状態で赤色（吸収極大 465nm）を呈色する CBB が、タンパク質と結合すると青色（吸収極大 595nm）となる原理を応用した手法です。

サンプル溶液と Bradford 溶液を混合し、分光光度計やマイクロプレートリーダーを用いて 595nm の吸光度を測定します。高温でのインキュベーターなどは不要で、短時間で簡単にタンパク質を定量することができます。

定量できるタンパク質濃度の範囲を表 1 に、また、共存可能な化学物質を表 2 に示しています。

【特徴】

- 1) 簡単・短時間の操作で正確な定量が可能
- 2) 高感度で再現性よく定量可能
- 3) 非常に低コスト、ルーチンワークにも最適

【内容・保存方法】

内容	容量	保管温度	使用期限
[×5] Bradford試薬	500mL	4℃	1年

【基本情報】

表 1 定量できるタンパク質濃度の範囲

	通常法	微量法
試験管・チューブ使用	0.1~1.0 mg/mL	2~50 µg/mL
マイクロプレート使用	0.05~0.5 mg/mL	2~50 µg/mL

表 2 サンプルに含まれていても測定に影響がない化学物質の上限濃度

成分		許容上限	
		通常法	微量法
酸・塩基	HCl	100mM	2.5mM
	NaOH	100mM	2.5mM
バッファー	Acetate	600mM	15mM
	Ammonium sulfate	1M	25mM
	Citrate	50mM	1.25mM
	Glycine	100mM	2.5mM
	HEPES	100mM	2.5mM
	Phosphate	2M	50mM
	Tris	2M	50mM
界面活性剤	Deoxycholate	0.1%	0.0025%
	SDS	0.1%	0.0025%
	Triton X-100	0.1%	0.0025%
還元剤	Dithiothreitol	1M	25mM
	2-Mercaptoethanol	1M	25mM
その他	EDTA	100mM	2.5mM
	Glycerol	100%	2.5%
	KCl	1M	25mM
	NaCl	5M	125mM
	Sucrose	300mM	7.5mM
	Urea	6M	150mM

【本品以外に準備が必要な器具】

- 595nm の吸光度測定が可能な分光光度計もしくはプレートリーダー
- 分光光度計に適したキュベット(試験管・チューブを使用する場合)
- 試験管・チューブ・マイクロプレート
- ボルテックスミキサー
- 0.45 µm フィルター
- 正確なピペット

【通常法プロトコール】

- 1) Bradford 試薬の準備
[×5] Bradford 試薬を室温に戻してから、超純水で 5 倍希釈して十分に混和し、沈殿が見られる場合は 0.45 µm フィルターなどを用いてフィルトレイトします。
※ 希釈・ろ過した Bradford 試薬は室温で 1 週間程度保管できます。
- 2) スタンダードの調製
測定可能範囲内で 5 段階程度のスタンダードタンパク質溶液を作製します。スタンダードはサンプルと同じバッファーで希釈するようにしてください。
- 3) 試薬の混合
下記の表の通り、サンプルとスタンダードを分注し、希釈・ろ過した Bradford 試薬を加え、ボルテックスやマイクロプレートリーダーのミキシング機能を用いて混合します。

	定量できるタンパク質濃度	サンプル/スタンダード	[×1] Bradford 試薬
試験管・チューブ使用	0.1~1.0 mg/mL	20 µL	1000 µL
マイクロプレート使用	0.05~0.5 mg/mL	10 µL	200 µL

- 4) インキュベーター
室温で 5 分間インキュベーターします。インキュベーター時間が長くなると徐々に吸光度が高くなりますので、室温で 1 時間以内にしてください。
- 5) 測定
試験管・チューブを使用している場合は、光路長 1cm のキュベットに溶液を移し、595nm で吸光度を測定します。マイクロプレートを使用している場合はプレートリーダーを使用して 595nm で吸光度を測定します。

【微量法プロトコール】

- 1) Bradford 試薬の準備
[×5] Bradford 試薬を室温に戻します。希釈はしません。
- 2) スタンダードの調製
測定可能範囲内で 5 段階程度のスタンダードタンパク質溶液を作製します。スタンダードはサンプルと同じバッファーで希釈するようにしてください。
- 3) 試薬の混合
下記の表の通り、サンプルとスタンダードを分注し、[×5] Bradford 試薬を加え、ボルテックスやマイクロプレートリーダーのミキシング機能を用いて混合します。

	定量できるタンパク質濃度	サンプル/スタンダード	[×5] Bradford 試薬
試験管・チューブ使用	2~50 µg/mL	800 µL	200 µL
マイクロプレート使用	2~50 µg/mL	160 µL	40 µL

- 4) インキュベーター
室温で 5 分間インキュベーターします。インキュベーター時間が長くなると徐々に吸光度が高くなりますので、室温で 1 時間以内にしてください。
- 5) 測定
試験管・チューブを使用している場合は、光路長 1cm のキュベットに溶液を移し、595nm で吸光度を測定します。マイクロプレートを使用している場合はプレートリーダーを使用して 595nm で吸光度を測定します。



株式会社ファーマフーズ アプロサイエンスグループ
〒770-0865 徳島県徳島市南末広町 4-53 エコービル 4 階
■Tel:088-678-6372 ■Mail:bio@apro-s.com
■Url:https://apro-s.com/
本社 〒615-8245 京都府京都市西京区御陵大原1-49