

Reagente de Bradford
13-1309-05 – 500mL
Ficha de Instruções de Uso

1. Uso pretendido

O Reagente de Bradford é usado para determinar a concentração de proteínas em solução.

2. Descrição

O procedimento é baseado na formação de um complexo entre o corante, *Brilliant Blue G*, e proteínas em solução. O complexo formado entre a proteína e o corante provoca uma mudança na absorção máxima nas leituras entre 465 e 595nm. O valor de absorção é proporcional à concentração de proteína presente. O Reagente de Bradford não requer diluição e é ideal para micro-ensaios, multi-ensaios e ensaios padrões. A linearidade do ensaio é de 0,1-1,4 mg/mL de proteína, usando BSA (albumina bovina sérica) como proteína padrão.

O Reagente de Bradford é compatível com agentes redutores, que são comuns para estabilização de proteínas em solução. Outros ensaios para quantificação de proteínas (*Lowry* e *BCA*) não são compatíveis com tais agentes. O Reagente de Bradford deve ser utilizado no lugar destes ensaios se agentes redutores estiverem presentes. Entretanto, o Reagente de Bradford só é compatível com concentrações baixas de detergentes (vide tabela de compatibilidade). Se a amostra de proteína a ser utilizada possui detergente presente no tampão, sugere-se a determinação através do ensaio de *BCA*.

3. Modo de Uso

O produto tem em sua composição; *Brilliant Blue G*, ácido fosfórico e metanol. O frasco com 500 mL é suficiente para, pelo menos 5.000 determinações. Acompanha 40 mg de padrão de proteína liofilizada (BSA) para ser diluída para a concentração de 1mg/mL em água deionizada.

Reagentes e equipamentos requeridos (dependendo do formato do ensaio):

- Tubos de ensaio, 13x100 mm
- Cuvetas de 2,0 ml (espectrofotômetro de cuvetas)
- Espectrofotômetro capaz de realizar leitura de absorbância na faixa de 465 e 595 nm.

4. Armazenamento

O produto armazenado entre 2 e 8°C é estável por 1 ano. A BSA reconstituída é estável por 60 dias entre 2 e 8°C ou 6 meses entre -20 a -70°C.

5. Procedimentos

Reconstituição do padrão de BSA

- Para reconstituir o padrão de Albumina bovina sérica, adicionar 4 mL de água deionizada e agitar até dissolução completa. Se o padrão não for utilizado em 60 dias aconselha-se congelar em -20°C.

Protocolo sugerido:

- Preparar entre 3 a 5 diluições da proteína padrão (BSA). A linearidade para o

ensaio com BSA é de 0,1 a 0,9 mg/mL.

- Pipetar 100 µL de cada padrão e amostra nos tubos recomendados. Ensaios com proteína normalmente são testados em duplicata ou triplicata.
- Adicionar 5,0 mL da solução de Bradford pronta- para-uso e leve os tubos para agitação no vórtex.
- Incubar em temperatura ambiente pelo menos 5 minutos. A absorbância em 595 nm poderá se ver aumentada com o decorrer do tempo, levando a resultados não desejados. Assim os ensaios deverão ser finalizados no máximo em uma hora.
- Realizar as leituras no espectrofotômetro (595 nm) como de costume, zerando o aparelho com água deionizada.

6. Informação de Segurança

- Sempre que estiver trabalhando com soluções químicas e amostras biológicas, EPIs são necessárias conforme normas de segurança regulamentadas.
- Depois de receber o produto verificar se as embalagens estão danificadas ou se há vazamento.
- Produto de uso apenas laboratorial e deverá ser armazenado em condições próprias para uso em laboratório.
- Caso sejam necessárias mais informações a respeito do produto, favor entrar em contato com a NOVA BIOTECNOLOGIA.

7. Garantia da Qualidade

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto Reagente de Bradford por ela fornecido contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da proposta.

- A garantia abrange defeitos de produção.
- Exceções na garantia:
- Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.
- Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

8. Informações do Fabricante

NOVA BIOTECNOLOGIA LTDA

R. PASADENA, 235 - PARQUE INDUSTRIAL SAN JOSE

CEP: 06.715-864 - COTIA/SP - BRASIL

CNPJ: 24.096.423/0001-15

RESPONSÁVEL TÉCNICO

Dra. ELIZABETH CORTEZ HERRERA - CRBM 20951

9. Atendimento ao Consumidor

Tel. +55 (11) 4243-2356

www.novabiotecnologia.com.br

e-mail: assessoria@novabiotecnologia.com.br sac@novabiotecnologia.com.br

10. Referências

1. Bradford, M.M., Anal. Biochem., **72**, 248 (1976).
2. Compton, S.J. *et al.*, Anal. Biochem., **151**, 369-374 (1985).
3. Friedenauer, D. *et al.*, Anal. Biochem., **178**, 263- 268 (1989).
4. Rubein, R.W. *et al.*, Anal. Biochem., **83**, 773-777 (1977).
5. Sedmak, J.J., and Grossberg, S.E., Anal. Biochem., **79**, 544 (1977). **79**, 544 (1977).
6. Sokuttgerber, A.G. *et al.*, Anal. Biochem., **179**, 198-201 (1989).
7. Tal, M. *et al.*, J. Biol. Chem., **260**, 9976-9980 (1985).

11. tabela de compatibilidade

Os valores listados no anexo são as concentrações máximas que podem estar presentes na amostra sem causar interferência no padrão e/ou nas amostras.

Substâncias incompatíveis	[] Compatível
Tampões	
ACES, pH 7.8	100 mM
N-Acetylglucosamine in PBS, pH 7.2	100 mM
Bicine, pH 8.4	100 mM
Bis-Tris, pH 6.5	100 mM
Calcium chloride in TBS, pH 7.2	10 mM
CHES, pH 9.0	100 mM
Cobalt chloride in TBS, pH 7.2	10 mM
EPPS, pH 8.0	100 mM
Ferric chloride in TBS, pH 7.2	10 mM
Glycine	100 mM
HEPES, pH 7.5	100 mM
Imidazole, pH 7.0	200 mM
MES (0.1 M), NaCl (0.9%), pH 4.7	não diluído
MES, pH 6.1	100 mM
MOPS, pH 7.2	100 mM
Nickel chloride in TBS, pH 7.2	10 mM
PBS; Phosphate (0.1 M), NaCl (0.15 M), pH 7.2	não diluído
PIPES, pH 6.8	100 mM
Sodium acetate, pH 4.8	180 mM
Sodium bicarbonate	0.1 M
Sodium citrate, pH 4.8 or pH 6.4	200 mM
Sodium Citrate (0.6 M), MOPS (0.1 M), pH 7.5	não diluído
Sodium phosphate	0.1 M
TBS; Tris (25 mM), NaCl (0.15 M), pH 7.6	não diluído
Tricine, pH 8.0	100 mM
Triethanolamine, pH 7.8	100 mM
Tris	2.0 M
Tris (25 mM), Glycine (192 mM), pH 8.0	não diluído
Tris (25 mM), Glycine (192 mM), SDS (0.1%), pH 8.3	diluído 1:2
Zinc chloride in TBS, pH 7.2	10 mM

Aditivos	
Ammonium sulfate	1.0 M
Aprotinin	10 mg/L
Asparagine	10 mM
Cesium bicarbonate	0.1 M
Glucose	1.0 M
Glycerol	10%
Guanidine•HCl	3.5 M
Hydrochloric Acid	0.1 M
Imidazole, pH 7.0	200 mM
Leupeptin	10 mg/L
Phenol Red	0.5 mg/ml
PMSF	1 mM
Sodium azide	0.5%
Sodium chloride	5.0 M
Sodium Hydroxide	0.1 M
Sodium orthovanadate in PBS, 1 mM	1 mM
Thimerosal	0.01%
Sucrose	10%
TLCK	0.1 mg/L
TPCK	0.1 mg/L
Urea 3.0 M	3.0 M
Detergentes	
BRIJ-35	0.125%
BRIJ-52	0.031%
CHAPS	5%
CHAPSO	5%
Deoxycholic acid	0.050%
Nonidet P-40 (IGEPAL® CA-630)	0.5%
SB3-14	0.125%
Octyl b-glucoside	0.5%
Octyl b-thioglucopyranoside	3%
SDS	0.125%
SPAN 20	0.5%
TRITON X-100	<0.1%
TRITON X-114	0.125%
TRITON X-305	0.5%
TRITON X-405	0.5%
TWEEN 20	0.062%
TWEEN 60	0.1%
TWEEN 80	0.062%
Agentes quelantes	
EDTA 100 mM	100 mM
EGTA 2 mM	2 mM
Sodium citrate, pH 4.8 or pH 6.4	200 mM
Agentes redutores e tióis	
2-Mercaptoethanol	1.0 M

Ascorbic acid	50 mM
Cysteine	10 mM
Dithioerythritol (DTE)	1 mM
Dithiothreitol (DTT)	5 mM
Potassium thiocyanate	3.0 M
Solventes	
Acetone	10%
Acetonitrile	10%
DMF	10%
DMSO	10%
Ethanol	10%
Methanol	10%