



## Kit para determinación de proteínas Método de Bradford

La determinación de proteínas por el método de Bradford consiste en la cuantificación de la unión de un colorante, el **Azul de Coomassie G-250**, a la proteína, comparando esta unión con la de diferentes cantidades de una proteína estándar (**Albúmina de Suero Bovino (BSA)**). La cuantificación se hace midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro, a 595 nm, y graficando la absorbancia vs la concentración de proteínas, obteniendo una curva de calibración de la proteína estándar. Con esta curva de calibración, se puede interpolar la concentración de proteínas en una muestra al medir su absorbancia a 595 nm.

### Contenido:

<b>1 Reactivo de Bradford 1x</b>	<b>250 mL</b>
<b>2 Solución de dilución</b>	<b>100 mL</b>
<b>3 Estándar de proteína (BSA 0.5 mg/ml)</b>	<b>2 mL</b>

### Almacenaje:

Reactivo de Bradford 1x: 2-8°C; Solución de Dilución: TA y Estándar de Proteína: -20°C.

### Procedimiento:

- 1- Prepare diluciones del **estándar de proteína** de 25, 50, 75 y 100 µg/mL, usando la **solución de dilución**:  
En 4 tubos tipo Eppendorf, añada 5, 10, 15 y 20 µL del **estándar de proteína** (0.5 mg/mL) y complete el volumen de 100 µL con la **solución de dilución**.  
En otro tubo añada 100 µL de la **solución de dilución**. Este es el blanco.
- 2- Prepare la(s) muestra(s) tomando un volumen igual o menor a 100 µL; completando los 100 µL con la **solución de dilución**.
- 3- Añada a cada tubo 1 mL del **reactivo de Bradford**, mezcle con agitador vórtex, e incube la reacción a temperatura ambiente por 2 minutos.
- 4- Mida la absorbancia a 595 nm ( $A_{595}$ ) en un espectrofotómetro, en un plazo no mayor de 1 hora.
- 5- Haga la curva de calibración estándar graficando la  $A_{595}$  vs la concentración de proteína estándar.
- 6- Determine la concentración de proteína en las muestras a partir de la curva de calibración estándar y los valores de  $A_{595}$ . Si la concentración es muy alta (queda fuera del rango del estándar), diluya la muestra o tome una alícuota menor para la determinación.

### Referencias:

- Bradford, M. M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of micro-gram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-254.
- Stoscheck, C.M. (1990): Quantitation of protein. *Methods in Enzymology*, 182: 50-69