

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS: MÉTODO DE BRADFORD

REFERENCIA: BRADFORD, M.M.; “A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding”. Anal. Biochem. 72: 248-254 (1976).

A) Reactivos:

Reactivo de Bradford,

- i. Disolver 5 mg de azul de Comassie en 2.5 ml de Etanol al 96 %.
 - ii. Añadir 5 ml de ác. ortofosfórico 85 %.
 - iii. Diluir hasta 50 ml con H₂O destilada.
 - iv. Dejar reposar 24 h en oscuridad y filtrar dos veces con papel de filtro o con filtros de 45 nm.
- **iii conservar en botella oscura no más de 15 días !!!!**

Patrón de BSA, 100 µg/ml en H₂O.

B) TÉCNICA

	B	P1	P2	P4	P6	P8	P10	Pr1	Pr2
H ₂ O	100 µl	90 µl	80 µl	60 µl	40 µl	20 µl	—	—	—
Patrón	—	10 µl	20 µl	40 µl	60 µl	80 µl	100 µl	—	—
Problema	—	—	—	—	—	—	—	25 µl	50 µl
Reac. Bradford	←————— 1000 µl —————→								
	AGITAR BIEN, Esperar 2-3 min								
	Leer ABS a 595 nm								

La reacción es estable durante 1 h.

Lavar la cubeta con metanol entre medida y medida.