

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5002	Bradford Protein Assay Kit	1000T/5000T
EK-5002A	G250 染色液 (Bradford Reagent)	250mL/1250mL
EK-5002B	蛋白标准液 BSA 5mg/mL	1mL/5mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4℃ 保存，有效期 12 个月

【概述】

Bradford 法（考马斯亮蓝法）基于染料与蛋白质结合后的显色反应。在酸性溶液中，考马斯亮蓝 G-250 与蛋白结合，其最大吸收峰为 595 nm。在一定范围内，A595 吸光度值与蛋白质浓度呈正比。

去垢剂影响：需确保样品中 SDS < 0.1%，Triton X-100 < 0.1%，Tween 系列 < 0.06%。若去垢剂超标，建议改用 EK-5004 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒（去垢剂兼容型）。

【使用方法】

1. 蛋白标准液的准备

① **稀释液选择**：建议使用与样品相同的缓冲液稀释标准品。若不含干扰物质，也可用 0.9% NaCl 或 PBS。

② **配制方案**：按照下表配制 0、0.125、0.25、0.5、0.75、1、1.5mg/mL 蛋白标准。每次稀释时注意充分混匀（推荐在微量离心管中操作）：

编号	稀释液体积	标准品体积	最终浓度
A	70μL	5mg/mL BSA 30μL	1.5mg/mL
B	30μL	从 A 管取 60μL	1mg/mL
C	20μL	从 B 管取 60μL	0.75mg/mL
D	30μL	从 C 管取 60μL	0.5mg/mL

E	60 μ L	从 D 管取 60 μ L	0.25mg/mL
F	60 μ L	从 E 管取 60 μ L	0.125mg/mL
G	60 μ L	0 μ L	0mg/mL

2. 蛋白浓度测定

① **加样**：取 5 μ L 标准品或待测样品加至 96 孔板中。

注：若样品不足 5 μ L，请用稀释液补足，并在计算浓度时乘以稀释倍数。

② **显色**：每孔加入 250 μ L G250 染色液。

③ **测定**：轻轻震荡混匀，立即使用酶标仪测定 A595 吸光度（或 560-610 nm 间其他波长）

④ **计算**：以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标绘制标准曲线，根据曲线方程计算样品浓度。

【注意事项】

- 反应速度**：Bradford 法显色极快，加样后建议立即检测。虽然 2 小时内信号相对稳定，但随时间增加可能产生蛋白-染料沉淀。
- 清洗风险**：G250 会染色塑料和石英，若使用比色皿，实验后需用酒精洗涤。使用 96 孔板可避免清洗麻烦。
- 干扰排除**：若样品中含有高浓度表面活性剂（去垢剂），吸光度会异常升高。此时可通过稀释样品使去垢剂浓度降至限值以下，亦可选择 EK-5004 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒（去垢剂兼容型）。
- 安全防护**：染色液含有酸性成分，具有一定腐蚀性，请佩戴手套操作。