

Bradford 蛋白浓度测定试剂盒（去垢剂兼容型）使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5004	Detergent Compatible Bradford Protein Assay Kit	1000T/5000T
EK-5004A	5×G250 染色液（去垢剂兼容型）	50ml/2×125ml
EK-5004B	蛋白标准液 BSA 20mg/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】

本试剂盒在常规 Bradford 法基础上进行了重大改良。通过优化显色体系，成功克服了去垢剂对考马斯亮蓝 G-250 显色的干扰。

核心优势：与常规 Bradford 法相比，本品可兼容 1% SDS、1% Triton X-100、1% Tween 20/80 等常见去垢剂；与 BCA 法相比，本品能兼容高浓度还原剂（如 DTT），且显色立即完成，检测速度极快。

适用场景：尤其适用于同时含有一定浓度去垢剂和还原剂的复杂蛋白样本。

灵敏度高：最小蛋白检测量可达 0.5μg，线性检测范围为 0.1-1.5mg/mL。

【使用方法】

1. 试剂准备

1×G250 工作液配制：取 1 份 5× G250 染色液，加入 4 份去离子水，混匀即可。若发现沉淀，请在使用前过滤或取上清。如取 5mL 5× G250 染色液，加入 20mL 去离子水混匀即为 1×工作液。

2. 蛋白标准曲线的配制

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	70 μ L	5mg/mL BSA 30 μ L	1.5mg/mL
B	30 μ L	从 A 管取 60 μ L	1mg/mL
C	20 μ L	从 B 管取 60 μ L	0.75mg/mL
D	30 μ L	从 C 管取 60 μ L	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 1 \times 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】

- 显色速度**：本试剂显色极快且立即稳定，建议加样后尽快测定，以获得最佳准确度。
- 去垢剂上限**：本品可完美兼容 1% SDS、1% Triton X-100、1% Tween 20/80 等，若样品去垢剂浓度超过 2%，建议进行预稀释后再测定。
- 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。
- 安全防护与用途**：操作时请穿实验服并佩戴手套，本品仅限科研使用。