Bradford 蛋白定量实验流程总览

适合已有基础生物学背景的使用者：从标准品配制、加样显色、读数到标准曲线换算一图看懂。

1. 准备 BSA 标准品

工作范围：100–1500 μg/mL

再做 1:5 稀释作为工作液

目的：建立标准曲线，用于换算未知样品浓度

2. 配制 Bradford 试剂

Coomassie 试剂 1:5 稀释

先回温到室温，再加 dH_2O 轻混

目的：获得稳定、均一的显色工作液

3. 96 孔板加样

每孔先加 5 μL 标准品/未知样品

再加 250 μL 稀释后 Bradford 试剂

目的：让蛋白与染料结合并开始显色

4. 混匀与孵育

轻柔吹打混匀

室温孵育 10 min

目的：显色反应充分并稳定

5. 595 nm 读数

仪器：Molecular Devices Spectra max PLUS

测定前选择 shaking 模式

需通过 ClusterMarket 预约

目的：读取蛋白-染料复合物吸光信号

6. 空白校正

用空白孔 595 nm 平均值

扣除其他标准品/样品的读数

目的：去除背景和试剂本底，提高准确性

7. 建立标准曲线

横轴：BSA 浓度（μg/mL）

纵轴：空白校正后的 A595 平均值

目的：建立吸光度与蛋白浓度的对应关系

8. 计算未知样品蛋白浓度

将未知样品空白校正后的 A595 代入标准曲线

反推出蛋白浓度；若样品预稀释，需换算回原始浓度

关键体积（原文给出）

- 每孔样品/标准品：5 μL
- 每孔 Bradford 试剂：250 μL

实验理解要点

- Bradford 法本质上是颜色反应定量
- 读数越高，通常表示蛋白越多
- 真正的浓度换算依赖标准曲线