

BCA 蛋白定量试剂盒

BCA Protein Assay Kit

本产品冰袋运输: **BSA 标准品** -20℃保存, 其它组分4℃保存, 保质期 12 个月。

货号规格

ZJ101	BCA 蛋白定量试剂盒	500次(微孔)
ZJ101L	BCA 蛋白定量试剂盒	2500次(微孔)

产品内容

组分	ZJ101	ZJ101L
试剂 A	100 mL	500 mL
试剂 B	3 mL	15 mL
BSA 标准品 (5mg/mL)	1 mL	5 mL

产品特点

-  **准确性高**——变异系数远小于考马斯亮蓝染色法;
-  **线性范围宽**——灵敏, 检测范围: 20~2000 µg/mL;
-  **兼容性好**——与金属离子、还原剂、螯合剂及去污剂兼容性较好。

产品简介

BCA 蛋白定量法是目前广泛使用的蛋白定量方法之一。本产品是基于 BCA (Bicin-choninic Acid) 法研制而成, 实现了对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。其原理是在碱性环境下蛋白质分子中的肽链结构能与 Cu^{2+} 络合生成络合物, 同时将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ , BCA 试剂可敏感特异地与 Cu^+ 结合, 形成稳定的有颜色的复合物, 其在 562nm 处有高的光吸收值, 颜色的深浅与蛋白质浓度成正比, 可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量。本试剂盒含有牛血清白蛋白 (BSA) 溶液作为蛋白质标准品溶液, 测定范围为 20~2000 µg/mL。

使用说明

◆以微孔酶标仪法为例:

1. 稀释 BSA 标准品:

取 120 µL 蛋白标准品 (需完全融解), 用与待测蛋白样品相一致的稀释液稀释至 300 µL, 使终浓度为 2 mg/mL。

★ **注意:** 为方便起见, 也可以用 0.9% 生理盐水或 PBS 缓冲液稀释标准品。

2. 配置显色工作液:

a. 计算显色工作液总量:

工作液总量 = (BSA 标准品样本个数 + 待测样本个数) × 复孔数 × 每个样本显色工作液体积

举例: BSA 标准品样本个数为 9 个, 待测样本个数 3 个, 复孔数 3 个。

显色工作液总量 = (9 个 BSA 标准品样本 + 3 个待测样本) × 3 个复孔 × 200 µL (每个样本工作液体积) = 7.2 mL

b. 根据计算出的显色工作液需要总量, 将试剂A和试剂B按照50:1的体积比, 配制显色工作液, 充分混匀。

★ 注意: 1) 由于加样可能存在误差, 建议配制BCA工作液时, 多配制1~2个孔。

2) 新配制的BCA工作液室温密封条件下可稳定保存24 h。

3. 定量检测

1. 将稀释后的标准品按0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 μL 分别加到96孔板中, 加入用于稀释标准品的溶液补足到20 μL (为避免枪尖损失, 可先补足稀释液后加入标准品);

孔号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
稀释后的标准品 (μL)	0	1	2	4	6	8	10	15	20
稀释液 (μL)	20	19	18	16	14	12	10	5	0
BSA 终浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	0	100	200	400	600	800	1000	1500	2000

2. 将样品适当稀释(可以多作几个梯度, 如2倍、4倍、8倍稀释), 加20 μL 到96孔板的样品孔中;

3. 各孔加入200 μL 显色工作液, 充分混匀, 盖上96孔板盖, 37°C 孵育30 min, 冷却至室温;

注: 也可以室温放置2 h, 或60°C 放置30 min。BCA法测定蛋白浓度时, 吸光度会随着时间的延长不断加深。并且显色反应会因温度升高而加快。如果蛋白浓度较低, 可在较高温度孵育, 或延长孵育时间。

4. 用酶标仪测定每个样品及BSA标准品的A562, 或540~590 nm 之间的其它波长的吸光度, 注意要减去空白对照(稀释液+工作液)的吸光度。

5. 绘制标准曲线, 计算样品中的蛋白浓度。

★ 注意: 数据处理时需要去除明显错误的值。待测样品浓度可以从标准曲线中查得, 实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。如果是计算机绘制的曲线, 可以从计算机给出的线性方程式计算出待测样品的浓度。

注意事项

1. 本产品可以采用酶标仪(微孔检测法)或者分光光度计(试管检测法)测定蛋白浓度, 如使用普通的光分光光度计测定, 需根据比色皿的最小检测体积, 适当加大BCA工作液的用量使不小于最小检测体积, 样品和标准品的用量可相应按比例放大也可不变。使用分光光度计测定蛋白浓度时, 每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少;
2. 试剂在低温条件或长期保存出现沉淀时, 可搅拌或37°C 温育使溶解;
3. 建议每次测定蛋白样品时, 都须绘制标准曲线, 以获得准确数据;
4. BSA标准品的稀释液需与待测样品的稀释液一致(可用1×PBS或0.9%生理盐水进行稀释);
5. 如待测样品中含较多的干扰物质(具体见附表), 可采用其它蛋白定量产品;
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
7. 本产品仅限科研使用。

干扰物质附表

化合物	耐受浓度	化合物	耐受浓度
缓冲液		去垢剂和变性剂	
乙酸盐	0.2 M	Brij35	1%
甘氨酸	1 M	CHAPS	1%
HEPES	0.1 M	盐酸胍	4 M
MES	50 mM	NP-40	1%
MOPS	50 mM	辛葡糖	1%
柠檬酸钠	<1 mM	SDS	1%
PIPES	50 mM	Triton X-100	1%
磷酸钠	0.1 M	糖类	
乙酸钠	0.2 M pH5.5	葡萄糖	10 mM
TES	50 mM	蔗糖	1 M
Tris	0.1 M	螯合剂	
盐类		EDTA	10 mM
硫酸铵	干扰	还原剂	
NaCl	1 M	β -巯基乙醇	50 μ M
尿素	3 M	DTT	1 mM
极性化合物		其它	
DMSO	5%	HCl/NaOH	0.1 M
甘油	10%	脂类	干扰

版本号：20I10