

BCA蛋白定量试剂盒

产品货号：26129

产品规格：250T/500T/2500T

产品简介：

目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法是：BCA法和Bradford法。

BCA法测蛋白的原理是在碱性环境下蛋白质与 Cu^{2+} 络合并将 Cu^{2+} 还原成 Cu^{1+} 。BCA与 Cu^{1+} 结合形成稳定的紫蓝色复合物，在562nm处有最大的光吸收值并与蛋白质浓度成正比，据此可测定蛋白质浓度。BCA法与传统方法相比，操作更简单、试剂及其形成的颜色复合物更稳定、灵敏度更高。BCA法测定蛋白浓度兼容性亦很好，不受大部分样本中其他成分的影响，对于5%以内的去垢剂如SDS、Triton X-100、Tween 20、Tween80、NP-40具有很好的兼容性，但易受螯合剂、还原剂等的影响，在测定蛋白浓度前应尽量使样本满足如下要求：EDTA浓度 $\leq 10\text{mM}$ 、DTT浓度 $\leq 1\text{mM}$ 、2-ME $\leq 0.01\%$ 、无EGTA。

乐业生物BCA Protein Assay Kit在50~2000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内有较好的线性关系。本试剂盒适用于微量蛋白质浓度的测定，其最小检出量为25 $\mu\text{g/ml}$ 。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	250T	500T	2500T	保存条件
试剂(A): BCA试剂A	50ml	100ml	500ml	室温
试剂(B): BCA试剂B	1.5ml	3ml	15ml	室温
试剂(C): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	室温
试剂(D): 蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	室温

自备材料：

1. 蒸馏水、生理盐水或PBS
2. 酶标仪或分光光度计、EP管、96孔板或比色皿、恒温箱或水浴锅

操作步骤(仅供参考)：

1. 取1ml蛋白标准配制液加入到含有20mg的蛋白标准(BSA)中，充分溶解后配制成20mg/ml的蛋白标准溶液，配制后可立即使用，配制的蛋白标准溶液应 -20°C 保存。
2. 取适量的20mg/ml蛋白标准溶液，稀释至终浓度为500 $\mu\text{g/ml}$ ，如取25 μl 蛋白标准(20mg/ml)，加入975 μl 稀释液，充分混匀即配制成500 $\mu\text{g/ml}$ 蛋白标准溶液。注意：待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准也宜溶解于同样的溶液中，一般可用0.9%NaCl或PBS作为BSA的稀释液，稀释后的500 $\mu\text{g/ml}$ 蛋白标准溶液也应 -20°C 长期保存。
3. 根据样品数量，按试剂(A):试剂(B)=50:1的比例配制BCA工作液，即取50份BCA试剂A和1份BCA试剂B，充分混匀，即获得BCA工作液(注意：正常BCA工作液应为苹果绿或墨绿色，如变为紫色或其他颜色应弃用)；例如取5ml BCA试剂A和0.1ml BCA试剂B，配制成5.1ml BCA工作液，BCA工作液室温24小时内稳定。
4. 将500 $\mu\text{g/ml}$ 蛋白标准溶液按0、1、2、4、8、12、16、20 μl 加到96孔板或EP管中，加稀释液补足至20 μl ，其蛋白标准浓度依次为0、25、50、100、200、300、400、500 $\mu\text{g/ml}$ 。
5. 加20 μl 待测蛋白到96孔板或EP管中，如果样本不足20 μl ，用稀释液补足至20 μl 。注意：如果标准品稀释液与溶解待测蛋白的溶液不同，应在待测蛋白中加入20 μl 稀释液；如果标准品稀释液与溶解待测蛋白的溶液相同，无需在待测蛋白孔中加入20 μl 稀释液，以减少不同溶液的差异。
6. 向各孔或EP管加入200 μl 配制好的BCA工作液，迅速混匀， 37°C 孵育30~60min。
7. 冷却至室温，立即用酶标仪或分光光度计测定562nm波长处吸光度(如无562nm，540~595nm之间的波长也可)，各孔或EP管吸光度减去蛋白浓度为0 $\mu\text{g/ml}$ 的标准管的吸光度，以求得的差值为纵坐标；以标准孔或EP管中蛋白浓度($\mu\text{g/ml}$)为横坐标，得出标准曲线及回归方程，根据标准曲线计算出待测样品的蛋白浓度。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

注意事项:

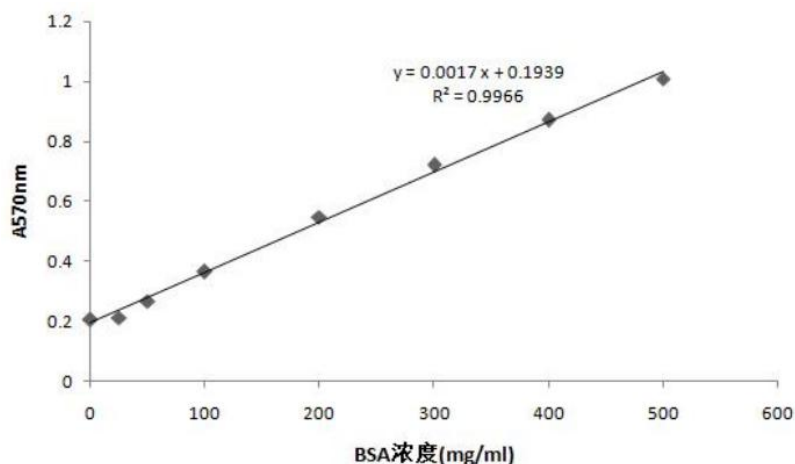
1. 蛋白标准(BSA)粉末溶解于蛋白标准配制液后,即获得蛋白标准原液(即 20mg/ml 的蛋白标准),该原液中含有防腐剂,不影响后续检测,该蛋白标准原液-20℃长期保存。
2. 待测蛋白溶解于什么样的稀释液中,蛋白标准也宜溶解于同样的溶液中,否则待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致,有可能导致测定不准确。
3. 如果检测效果不佳,可以室温放置 2h 或 60℃放置 30min,颜色会随着时间的延长不断加深,显色反应也会随温度升高而加快;如果浓度较低,可以适当延长孵育时间或在较高温度下孵育。
4. 测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加,吸光度或颜色没有明显变化,可能的原因是样品中含有严重干扰 BCA 法测定蛋白浓度的物质。
5. 如检测样本中含有较多螯合剂、还原剂等影响因素时可考虑 Bradford 法测定。
6. 因 BCA 法测定时颜色会随着时间的延长不断加深,建议每次测定时都作标准曲线,且显色反应的速度和温度有关,所以除非精确控制显色反应的时间和温度,否则每次都做标准曲线。
7. 如果没有酶标仪也可以用普通的分光光度计测定,但应考虑比色皿的最小测定体积,按比例适当加大 BCA 工作液的用量使总体积不小于最小检测体积,样品和标准品的用量亦相应按比例放大;使用分光光度计测定蛋白浓度时,可以测定的样品数量会显著减少。
8. 为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当加热,但切勿过热,否则易失效。
9. 试剂开封后请尽快使用,以防影响后续实验效果。
10. 为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当用微波炉加热,但是切勿过热。

有效期: 12 个月有效。蛋白标准配制成溶液后应-20℃冻存。

附录 1: 标准曲线制作: 乐业生物 在室温条件下按说明书操作,对系列标准用酶标仪测定 570nm 时的吸光度,其数值及标准曲线如下(仅供参考):

蛋白标准 (μg/ml)	0	25	50	100	200	300	400	500
吸光度	0.205	0.211	0.266	0.364	0.547	0.72	0.87	1.009

注意: 对于 10~50 μg/ml 范围内的蛋白样品,要充分考虑如 EDTA、2-ME、DTT 等干扰因素,其检测结果波动较大,标准品亦有波动,请注意小心精细操作。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com