

BCA 蛋白定量试剂盒

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^+ 。BCA 与 Cu^+ 结合形成稳定的紫蓝色复合物, 在 562 nm 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。

BCA Protein Assay Kit 在 50 ~ 1000 $\mu\text{g/ml}$ 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:

名称 \ 编号	PT0001 250T	PT0001 500T	PT0001 2500T	Storage
试剂(A): BCA 试剂 A	50ml	100ml	500ml	RT
试剂(B): BCA 试剂 B	1.5ml	3ml	15ml	RT
试剂(C): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	RT
试剂(D): 蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	RT
使用说明书	1 份			

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, 充分溶解后配制成为 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 200μl 配制好的 BCA 工作液，迅速混匀，37℃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 0μg/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(μg/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。

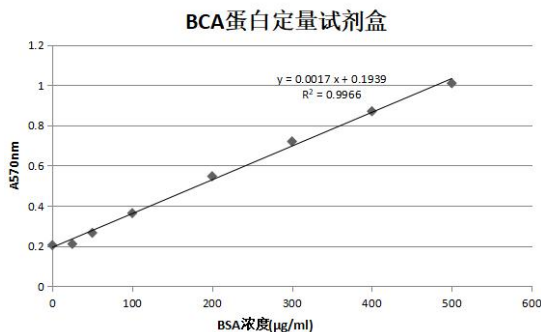
注意事项：

- 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，否者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、蛋白标准配制成溶液后-20℃冻存。

有效期：12 个月有效。

附录 1：标准曲线制作：Leagene 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	1.00



T 等干扰
建议采购

相关产品：

产品编号	产品名称
PE0003	TCEP 溶液(0.5M,pH6.8)
PE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
PE0025	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×,含 DTT)
PE0050	微量蛋白上样缓冲液(1/6×)
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
PE0093	Tris-甘氨酸电泳缓冲液(10×)
PE0103	Acr-Bis(30%,29:1)
PE0155	PAGE 胶凝固剂(APS,10%)
PE0157	PAGE 胶促凝剂
PE0295	非变性蛋白上样缓冲液(5×,含 DTT)
PE0300	双色 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×,含 DTT)
PE0320	速溶型蛋白上样缓冲液(变性,还原型,5×)
PE0442	一步法 PAGE 凝胶快速制备试剂盒(10%)
PE0600	彩色预染蛋白分子量标准(10-180kD)
PI0012	苯甲基磺酰氟溶液(PMSF-AB,100mmol/L)
PI0015	蛋白酶抑制剂混合液(100×PIC)
PI0090	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(10×)
PI0101	蛋白酶抑制剂混合液(100×,不含 EDTA)
PS0013	RIPA 裂解液(强)
PS0033	RIPA 裂解液(强,无抑制剂)
PS0055	全蛋白提取试剂盒
PS0080	植物 Western 及 IP 细胞裂解液
PS0215	植物种子蛋白提取试剂盒
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
PT0015	考马斯亮蓝快速染色液(免脱色)
PT0027	蛋白快速银染试剂盒
PT0056	福林酚试剂(B,2M)
PT0102Y	即用型 BCA 蛋白定量试剂盒
PW0025	10×TBST 缓冲液(pH8.0)
PW0040	Western blot 一抗稀释液
PW0042	Western blot 一抗稀释液(无蛋白)
PW0056	WB 抗体快速剥离缓冲液(温和通用型)
PW0058	Western 洗涤液(10×)
PW0062	通用显影定影液套装
PW0097	醋酸纤维薄膜电泳透明液
PW0111	ECL Plus 化学发光液
PW0200	马血清
PW0300	膜再生液
PW0340	TBSTw(10X)(TBS with Tween-20,10X)
PW0402	免冰浴快速转膜缓冲液(10×)
PW0410	无蛋白快速封闭液(1×)
PW0422	通用型抗体稀释液(无蛋白)
PW0442	通用型封闭与抗体稀释液(无蛋白)
PW0600	Alcohol Resistant Marker(双头耐酒精记号笔, 黑色)

文件引用:

- 1、Hu Ke, Yu Tingting, Tang Shijia, et al. Dual anisotropy comprising 3D printed structures and magnetic nanoparticle assemblies: towards the promotion of mesenchymal stem cell osteogenic differentiation. *NPG Asia Materials*. March 2021. 10.1038/s41427-021-00288-x. (IF 10.481)
- 2、Lv Fu, He Yingxin, Xu Hongde, et al. CD36 aggravates podocyte injury by activating NLRP3 inflammation and inhibiting autophagy in lupus nephritis. *Cell Death & Disease*. August 2022. 10.1038/s41419-022-05179-9. (IF 9.685)
- 3、Sun Ye, Liu Wenjun, Zhao Qiuyu, et al. Down-Regulating the Expression of miRNA-21 Inhibits the Glucose Metabolism of A549/DDP Cells and Promotes Cell Death Through the PI3K/AKT/mTOR/HIF-1 α Pathway. *Frontiers in Oncology*. May 2021. 10.3389/fonc.2021.653596. (IF 6.244)
- 4、Haoran Wang, Ran Suo, Yangyang Wang, et al. Effects of electron beam irradiation on protein oxidation and textural properties of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during refrigerated storage. *Food Chemistry-X*. November 2023. 10.1016/j.fochx.2023.101009. (IF 6.1)
- 5、Tang Shijia, Wang Lin, Zhang Yunyang, et al. A Biomimetic Platelet-Rich Plasma-Based Interpenetrating Network Printable Hydrogel for Bone Regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. April 2022. 10.3389/fbioe.2022.887454. (IF 6.064)
- 6、Xingbo Liu, Ran Suo, Haoran Wang, et al. Differential proteomic analysis using a tandem-mass-tag-based strategy to identify proteins associated with the quality indicators of *Penaeus vannamei* after high-pressure treatment. *LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*. September 2022. 10.1016/j.lwt.2022.113960. (IF 6.056)
- 7、Yongmei Yu, Meican Ma, Chunyan Li, et al. Irisin mitigates rheumatoid arthritis by suppressing mitochondrial fission via inhibiting YAP-Drp1 signaling pathway. *INTERNATIONAL IMMUNOPHARMACOLOGY*. December 2023. 10.1016/j.intimp.2023.111443. (IF 5.6)
- 8、Lingling Cui, Huijun Zhou, Yudan Hao, et al. Effect of ferric citrate on hippocampal iron accumulation and widespread molecular alterations associated with cognitive disorder in an ovariectomized mice model. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. September 2024. 10.1111/cns.70018. (IF 4.8)
- 9、Fan Chunxue, Liang Weishi, Wei Min, et al. Effects of D-Chiro-Inositol on Glucose Metabolism in db/db Mice and the Associated Underlying Mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*. March 2020. 10.3389/fphar.2020.00354. (IF 4.225)
- 10、Xing Chen, Chaoyue Pang, Xueqiao Liu, et al. Investigation of the antibacterial activity of benzothiazolone against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *PESTICIDE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY*. January 2024. 10.1016/j.pestbp.2024.105768. (IF 4.2)
- 11、Jiazhong Lin, Yanfeng Huang, Xiang Lin, et al. *Bauhinia championii* alleviates extracellular matrix degradation in IL-1 β induced chondrocytes via miRNA-145-5p/TLR4/NF- κ B axis. *Heliyon*. August 2023. 10.1016/j.heliyon.2023.e19138. (IF 4)
- 12、Yufei Wu, Chuan Sun, et al. Salidroside prevents cadmium chloride-induced DNA damage in human fetal lung fibroblasts. *JOURNAL OF TRACE ELEMENTS IN MEDICINE AND BIOLOGY*. September 2024. 10.1016/j.jtemb.2024.127521. (IF 3.6)
- 13、Saqier, Shuyin Bao, Shuying Han, et al. Effects of *Agriophyllum squarrosum* extracts on glucose metabolism in KKAY mice and the associated underlying mechanisms. *JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY*. May 2019. 10.1016/j.jep.2019.112009. (IF 3.414)
- 14、Zhenhua Wu, Yunpeng Bai, Yujuan Qi, et al. lncRNA NEAT1 Downregulation Ameliorates the Myocardial Infarction of Mice by Regulating the miR-582-5p/F2RL2 Axis. *Cardiovascular Therapeutics*. December 2022. 10.1155/2022/4481360. (IF 3.368)
- 15、Lai Yafang, Wang Xiaofei, Ma Jingrong, et al. Knockdown of EIF2AK2-OAS1 axis reduces ATP production inducing AMPK phosphorylation to inhibit the malignant behavior of gastric cancer cells. *JOURNAL OF BIOENERGETICS AND BIOMEMBRANES*. June 2024. 10.1007/s10863-024-10023-0. (IF 2.9)
- 16、Guangyu Sun, Yanmin Song, Congxian Li, et al. MTCH2 promotes the malignant progression of ovarian cancer through the upregulation of AIMP2 expression levels, mitochondrial dysfunction and by mediating energy metabolism. *Oncology Letters*. August 2024. 10.3892/ol.2024.14625. (IF 2.5)
- 17、Jiang Chang, Qingzhuang Yang, Xiangwei Liu, et al. Dihydroartemisinin inhibits ATP6 activity, reduces energy metabolism of hepatocellular carcinoma cells, promotes apoptosis and inhibits metastasis via CAX. *Oncology Letters*. August 2024. 10.3892/ol.2024.14607. (IF 2.5)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页