

BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)

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+} 络合并将其还原成 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。

BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(Enhanced BCA Protein Assay Kit)是根据普通的 BCA 法研制而成, 实现了蛋白浓度测定的简单、高稳定性、高灵敏度和高兼容性。

和普通 BCA 蛋白浓度测定试剂盒相比, 本产品特点如下:

- ①灵敏度更高, 检测浓度下限达到 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 最小检测蛋白量达到 0.2 μg , 待测样品体积为 1-20 μl 。
- ②显色速度更快, 相同的样品孵育较短时间即可进行吸光度测定。
- ③对样品中各种物质的详细的兼容性相同: 不受绝大部分样品中化学物质的影响, 可以兼容高达 5% 的 SDS, 5% 的 Triton X-100, 5% 的 Tween 20、60、80。但易受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响, 需确保 EDTA 低于 10mM, 无 EGTA, 二硫苏糖醇(DTT)低于 1mM, β -巯基乙醇(β -Mercaptoethanol)低于 0.01%。不适用 BCA 法时建议试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(PT0002)。

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	PT0103B 200T	PT0103B 500T	PT0103B 5000T	Storage
试剂(A): BCA 试剂 A	40ml	100ml	500ml $\times$ 2	RT
试剂(B): BCA 试剂 B	1.2ml	3ml	30ml	RT
试剂(C): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	RT
试剂(D): 蛋白标准配制液	1ml	2ml	5ml	RT
使用说明书	1 份			

操作步骤(仅供参考):

1. 蛋白标准品的准备

- a. 取 0.8ml 蛋白标准配制液加入到一管蛋白标准(20mg BSA)中, 充分溶解后配制成 25mg/ml 的蛋白标准溶液。配制后可立即使用, 也可以 -20 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存。
- b. 取适量 25mg/ml 蛋白标准, 稀释至终浓度为 0.5mg/ml。例如取 20 μl 25mg/ml 蛋白标准, 加入 980 μl 稀释液即可配制成 0.5mg/ml 蛋白标准。蛋白样品在什么溶液中, 标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见, 也可以用 0.9% NaCl 或 PBS 稀释标准品。稀释后的 0.5mg/ml 蛋白标准可以 -20 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存。

2. BCA 工作液的配制

根据样品数量, 按 50 体积 BCA 试剂 A 加 1 体积 BCA 试剂 B(50:1)配制适量 BCA 工作液, 充分混匀。例如 5ml BCA 试剂 A 加 100 μl BCA 试剂 B, 混匀, 配制成 5.1ml BCA 工作液。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。

3. 蛋白浓度检测

- a. 将标准品按 0、1、2、4、8、12、16、20 μl 加到 96 孔板的标准品孔中, 加标准品

稀释液补足到 20 μ l，相当于标准品浓度分别为 0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5mg/ml。

b. 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 20 μ l，加标准品稀释液补足到 20 μ l。请注意记录样品体积。

c. 各孔加入 200 μ l BCA 工作液，37 $^{\circ}$ C 放置 20-30 分钟。

注：也可以室温放置 2 小时，或 60 $^{\circ}$ C 放置 30 分钟。BCA 法测定蛋白浓度时，颜色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。如果浓度较低，适合在较高温度孵育，或适当延长孵育时间。

d. 用酶标仪测定 A562，或 540-595nm 之间的波长的吸光度。

e. 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度。

注意事项：

- 1、需酶标仪一台，测定波长为 540-595nm 之间，562nm 最佳。需 96 孔板。如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但测定时，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、如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，请试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒 (PT0002)。
- 3、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。
- 4、EDTA 浓度必须小于 10mM，不兼容 EGTA。不适用 BCA 法时，请试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(PT0002)。
- 5、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：室温保存。蛋白标准配制成溶液后-20 $^{\circ}$ C 冻存。

附录 1：

在 20-1000 μ g/ml 浓度范围内有较好的线性关系。本产品从 0.025 到 0.5mg/ml 的标准曲线参考图 1。

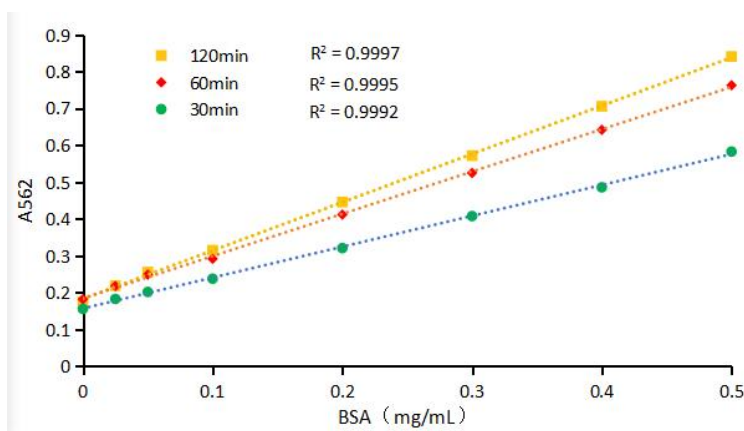


图 1. 上图为加入 BCA 工作液后 37 $^{\circ}$ C 分别孵育 30、60 和 120 分钟后的吸光度实测效果图。图中数据仅供参考，实际的检测效果可能会略有不同。

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)