

BCA蛋白浓度测定试剂盒

BCA Protein Assay Kit

Cat. No.: JH0019 Size: 50T

SerfullCare

描述: BCA 蛋白浓度测定试剂盒(BCA Protein Assay Kit)是根据目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法之一— BCA (bicinchoninic acid) 法改良研制而成, 该试剂盒具有蛋白浓度测定的简单性, 高稳定性, 高灵敏度和高兼容性。本试剂盒的原理是蛋白质分子中的肽键结构在碱性环境下能与 Cu^{2+} 络合生成络合物, 将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ , 而 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, 并在 562nm 处有最大光吸收值, 该复合物颜色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的含量, 1 小时内即可完成蛋白定量检测。本试剂盒含有牛血清白蛋白 (BSA) 溶液作为蛋白质标准溶液, 测定范围为 25~2000 $\mu\text{g/ml}$ 。该试剂盒可用于 50 次试管检测或 500 次 ELISA 板检测。

组分

| 组分 | 数量 | 保存 |
|-------------------|--------|------|
| BCA Reagent A | 100 ml | 室温 |
| BCA Reagent B | 1 ml×2 | 室温 |
| BSA 标准品 (2 mg/ml) | 1 ml×2 | -20℃ |

操作方法

1. 标准品的稀释: 按下表将 BSA 进行稀释。

| 管号 | PBS | BSA 体积 (来源) | BSA 终浓度 ($\mu\text{g/ml}$) |
|----|-------------------|-------------------------|---------------------------------|
| A | 0 | 300 μl (母液) | 2000 |
| B | 125 μl | 375 μl (母液) | 1500 |
| C | 325 μl | 325 μl (母液) | 1000 |
| D | 175 μl | 175 μl (B 管) | 750 |
| E | 325 μl | 325 μl (C 管) | 500 |
| F | 325 μl | 325 μl (E 管) | 250 |
| G | 325 μl | 325 μl (F 管) | 125 |
| H | 400 μl | 100 μl (G 管) | 25 |
| I | 400 μl | 0 | 0 |

2. BCA 工作液的配置: 根据样品数量及测定方法, 将 BCA Reagent A 和 BCA Reagent B 按体积比 50:1 充分混匀即可。

注意: 配制 BCA 工作液前请将 BCA Reagent A 混匀。

3. 标准比色杯测定方法

- (1) 吸取 0.1 ml 的各标准品和待测样品置于合适的管中。
- (2) 加入 2 ml BCA 工作液, 充分混匀。
- (3) 37℃ 孵育 30 min, 然后室温静置 10 min。
- (4) 紫外分光光度计于 562 nm 处检测吸光度。
- (5) 绘制标准曲线。
- (6) 根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

4. 微管测定方法

- (1) 分别取 25 μl 新鲜配制的 BSA 标准液和待测样品, 加入到 ELISA 反应板中。
- (2) 每孔加入 200 μl BCA 工作液, 充分混匀。
- (3) 37℃ 孵育 30 min, 然后室温静置 10 min。
- (4) 酶标仪于 562nm 处检测吸光度。
- (5) 绘制标准曲线。
- (6) 根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

注意事项

1. 待测样品浓度在 25~2000 $\mu\text{g/ml}$ 的范围内具有良好的线性关系。
2. BCA 工作液配制后 24 小时内使用效果稳定。
3. 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。如果浓度较低, 适合在较高温度孵育, 或延长孵育时间。
4. 使用普通的分光光度计测定时, 需根据比色皿的最小检测体积, 适当加大 BCA 工作液的用量, 使其不小于最小检测体积, 样品和标准品的用量可相应按比例调整。
5. 适用范围

BCA蛋白浓度测定试剂盒

BCA Protein Assay Kit

Cat. No.: JH0019

Size: 50T

SerfullCare

| 盐/缓冲液类干扰物质 | 耐受浓度 | 去垢剂类干扰物质 | 耐受浓度 |
|------------------|---------|------------|-------|
| HEPES (pH 7.9) | ≤100 mM | NP-40 | ≤5% |
| PIPES (pH 6.8) | ≤100 mM | Triton | ≤4% |
| NaCl | ≤1 M | X-100 | ≤4% |
| HCl | ≤100 mM | SDS | ≤4% |
| NaOH | ≤100 mM | Tween-20 | |
| Sodium citrate | ≤100 mM | 混合物& 极性化合物 | 耐受浓度 |
| TRICINE (pH 8.0) | ≤20 mM | | |
| Sodium Acetate | ≤200 mM | | |
| Guanidine.HCl | ≤4 M | PMSF | ≤1 mM |
| Tris | ≤50 mM | Acetone | ≤10% |
| Sucrose | ≤40% | Ethanol | ≤10% |
| EDTA | ≤10 mM | Glycerol | ≤10% |
| DTT | ≤0.2 mM | Urea | ≤3 M |
| | | DMSO | ≤10% |

实例操作

按上述操作方法可得到如下标准工作曲线，该线性方程经过多次绘制，系数均为 0.0001，且 R^2 值均在 0.99~1 之间，重复性好，在计算蛋白浓度时可直接用该标准工作曲线进行计算。例如：在 562 nm 处检测吸光值为 0.1，则此时 y 值为 0.1，代入方程 $y=0.0001x$ 中，可得蛋白浓度为 1000 $\mu\text{g/ml}$ 。

