



BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)

货号: WD100063-0500

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 $0.2\mu\text{g}$, 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 GTA, 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(WGD-X-3100095)。

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	WD100063 500T	WD100063 5000T	Storage
试剂(A): BCA 试剂 A	100ml	500ml $\times$ 2	RT
试剂(B): BCA 试剂 B	3ml	30ml	RT
试剂(C): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	RT
试剂(D): 蛋白标准配制液	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

- 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°C 长期保存。
- 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°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

- 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。

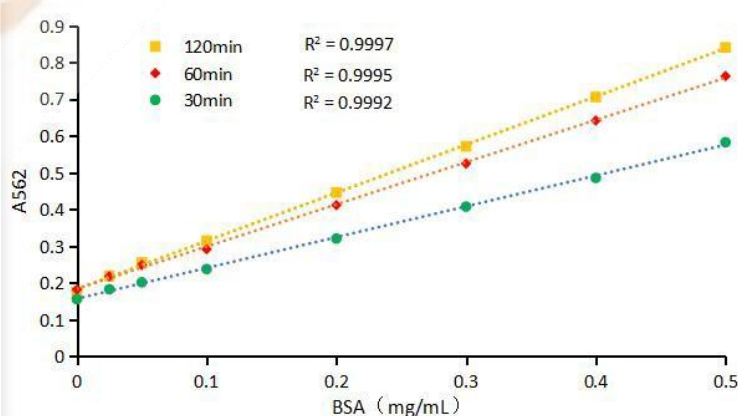


图 1. 上图为加入 BCA 工作液后 37 $^{\circ}$ C 分别孵育 30、60 和 120 分钟后的吸光度实测效果图。图中数据仅供参考，实际的检测效果可能会略有不同。