北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

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^{1+}。BCA 与 Cu^{1+}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≤10mM、DTT 浓度≤1mM、2-ME≤0.01%、无 EGTA。

BCA Protein Assay Kit 在 50～2000μg/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 25μg/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:

编号 / 名称	GCPT0001 250T	GCPT0001 500T	GCPT0001 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			

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℃保存。

2、取适量的 20mg/ml 蛋白标准溶液，稀释至终浓度为 500μg/ml，如取 25μl 蛋白标准(20mg/ml)，加入 975μl 稀释液，充分混匀即配制成 500μg/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 500μg/ml 蛋白标准溶液也应-20℃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 500μg/ml 蛋白标准溶液按 0、1、2、4、8、12、16、20μl 加到 96 孔板或 EP 管中，加稀释液补足至 20μl，其蛋白标准浓度依次为 0、25、50、100、200、300、400、500μg/ml。

5、加 20μl 待测蛋白到 96 孔板或 EP 管中，如果样本不足 20μl，用稀释液补足至 20μl。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 20μl 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 20μl 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、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

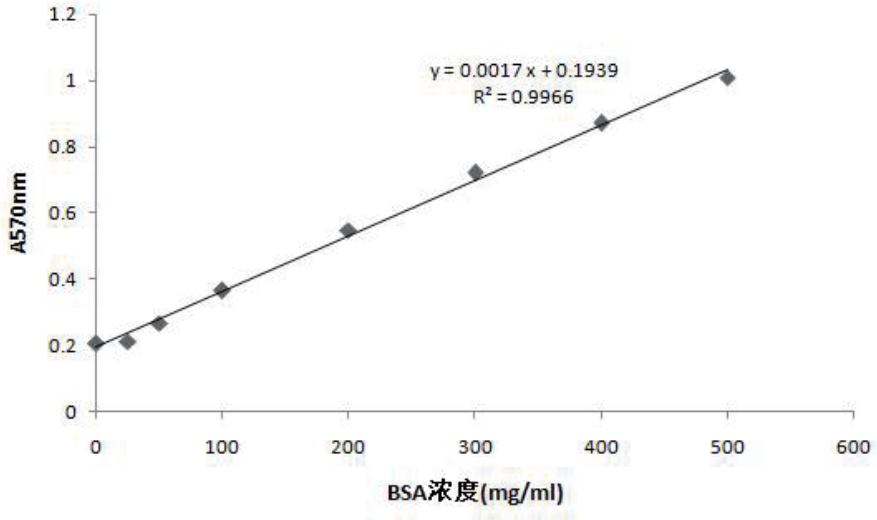
10、为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当用微波炉加热，但是切勿过热。室温保存。蛋白标准配制成溶液后-20℃冻存。

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	1.009

注意：对于 10～50μg/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，Leagene 建议采购微量 BCA 蛋白定量试剂盒 PT0006。



相关产品：

产品编号	产品名称
GCPS0009	Western 及 IP 细胞裂解液
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCPT0002	Bradford 蛋白定量试剂盒
GCPT0006	微量 BCA 蛋白定量试剂盒
GCPT0008	改良 Lowry 法蛋白定量试剂盒
GCCS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
GCPW0072	DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒
GCTC0545	总蛋白检测试剂盒(双缩脲微板法)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)