BCA 蛋白定量试剂盒

(本试剂盒仅供科研使用)

一、产品包装

试剂 A 和试剂 B, 室温保存一年有效。BSA 室温保存 一个月; 4°C 保存一年; -20°C 长期保存。

产品规格	试剂成分	包装规格		
500T	BCA 试剂 A	100mL		
	BCA 试剂 B	3mL		
	BSA 标准品	①	2000 μ g/mL	1mL
		②	1500 μ g/mL	1mL
		③	1000 μ g/mL	1mL
		④	750 μ g/mL	1mL
		⑤	500 μ g/mL	1mL
		⑥	250 μ g/mL	1mL
		⑦	150 μ g/mL	1mL
⑧	0 μ g/mL	1mL		

二、产品介绍

BCA 蛋白定量试剂盒是一种即用型的总蛋白分析试剂, 可通过测量 562nm 处的吸光度并与蛋白标准物的吸光度-浓度曲线进行比较, 快速测定总蛋白浓度。

本试剂盒适用于对纯化蛋白、动植物组织、以及各类样本进行总蛋白含量测定, 检测浓度范围 20-2000 μ g/mL, 随着蛋白质浓度的增加, 吸光度与蛋白浓度呈线性关系。

本试剂盒是基于 BCA (Bicin-chonic Acid) 法研制而成, 实现了对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。其原理是在碱性条件下, 蛋白将 Cu^{2+} 还原成 Cu^{+} , Cu^{+} 与 BCA 试剂形成紫色的络合物, 这种水溶性复合物在 562nm 处表现出很强的吸光度。

如果需要精确定量待测蛋白质, 建议选择质量与待测蛋白质相似的蛋白质标准品, 例如在测定免疫球蛋白样品时, 可以使用 γ 球蛋白 (BGG) 标准品。

本试剂盒的标准品为浓度梯度形式, 浓度范围在 150-2000 μ g/mL, 无需进行一系列梯度稀释, 检测过程更加快捷。

三、操作步骤 (以微孔酶标仪为例)

1、配制 BCA 工作试剂: 以 50:1 的比例混合 BCA 试剂 A 和 BCA 试剂 B。即: 取 50mL BCA 试剂 A 与 1mL BCA 试剂 B 混合。

注: 确定所需工作试剂总量的方法: (标准品+待测样品) x (重复次数) x (每个样品所需要的 BCA 工作液) = 所需 BCA 工作液总体积。

2、将 25 μ L 的每种标准品和蛋白质样品添加到单独的微孔板孔中。

3、向每个孔中加入 200 μ L BCA 工作试剂并混匀。

4、密封板并 37°C 孵育 30min。

5、将板冷却至室温, 10min 内用酶标仪测定 A562nm。

6、从所有读数中减去空白的 OD562。绘制 BSA 标准曲线: OD562 (在 Y 轴上) 对 BSA 标准浓度 (在 X 轴上)。

7、使用标准曲线确定每个待测样品的蛋白质浓度。

四、注意事项

- 1、如果将本试剂盒冷藏或存放在冷库中, 则试剂 A 或试剂 B 中可能会形成沉淀物, 要溶解沉淀物, 请在 37°C 下缓慢加热溶液, 同时进行混合或微波处理几秒钟。如果试剂盒被细菌污染, 则将其丢弃。
- 2、如果样品中存在还原性物质或金属螯合物而引起干扰, 建议使用 Bradford 分析试剂盒。
- 3、建议一式两份地测定不同浓度和样品的标准液. 每种测定均应绘制标准曲线。
- 4、彻底混合 BCA 试剂 A 和试剂 B 后, 新形成的绿色浊度将消失, 它不会影响性能。
- 5、使用分光光度计检测蛋白质浓度时, 测定的样品量将减少。使用 37°C 的培养箱时, 请防止水蒸发的影响。
- 6、消除或最小化干扰物质影响的几种方法:
 - 通过透析或凝胶过滤去除干扰物质.
 - 稀释样品, 直到物质不再干扰为止.
 - 由于高浓度的去污剂也会影响结果, 因此请用三氯乙酸 (TCA) 沉淀样品中的蛋白。
- 7、避免使用包括还原性物质, 螯合剂, 强酸和强碱在内的物质, 因为即使浓度很低也会干扰蛋白质的估算。