

BCA 蛋白质浓度测定试剂盒

货号: BC016

产品包装:

产品编号	产品名称	包装
BC016A	BCA 试剂 A	100mL
BC016B	BCA 试剂 B	5mL
BC016C	蛋白标准品	1mL*3
	说明书	1 份

保存条件: 试剂 A 与试剂 B 室温保存, 蛋白标准品 -20°C 保存, 一年有效。

产品简介:

碱性条件下, 蛋白将 Cu^{2+} 还原为 Cu^{+} , Cu^{+} 与 BCA 试剂形成紫颜色的络合物, 吸光强度与蛋白浓度成正比。测定其在 562nm 处的吸收值, 并与标准曲线对比, 即可计算待测蛋白的浓度。本产品蛋白质测定范围为 25—2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1 小时左右即可完成测定。BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响, 可以兼容样品中高达 5% 的 SDS, 5% 的 Triton X-100, 5% 的 Tween 20。但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, 二硫苏糖醇低于 1mM, β -巯基乙醇低于 0.01%。

使用说明:

- 1、 配制工作液: 根据标准品和样品数量, 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。
- 2、 按照下表将标准品稀释至 25-2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。稀释液应选取 PBS。
- 3、 将 25 μL 的标准品或合适浓度范围的样本分别加入 96 孔板的微孔中。

管号	稀释液体积(μL)	标准品体积(μL)	终浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	150	100	2000
2	30	90 (从 1 管取)	1500
3	60	60 (从 1 管取)	1000
4	60	60 (从 2 管取)	750
5	60	60 (从 3 管取)	500
6	60	60 (从 5 管取)	250
7	60	60 (从 6 管取)	125
8	60	0	0

- 4、 各孔加入 200 μ L BCA 工作液，充分混匀。
- 5、 盖上 96 孔板盖， 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
- 6、 冷却到室温，用酶标仪测定 A562，根据标准曲线计算出蛋白浓度。

注意事项：

- 1、 在低温条件或长期保存出现沉淀时，可搅拌或 37 $^{\circ}$ C 温育，如发现试剂污染，则应丢弃。
- 2、 样品中若含有 EDTA、EGTA、DTT、硫酸铵、脂类会影响检测结果。
- 3、 要得到更为精确的蛋白浓度结果，每个蛋白梯度和样品均需做复孔且标准品与样品处理要尽量一样，每次均应做标准曲线。
- 4、 需准备 37 $^{\circ}$ C 水浴或温箱、酶标仪，测定波长为 540-595nm 之间，562nm 最佳。使用温箱孵育时，应注意防止因水分蒸发影响检测结果。
- 5、 测定蛋白浓度时，吸光度会随着孵育时间的延长不断加深，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。
- 6、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴手套操作。