

产品介绍:

BCA(bicinchoninic acid)法蛋白浓度定量试剂盒是一种抗干扰能力强且准确定量的蛋白含量检测试剂盒。本试剂盒采用新型 BCA 螯合剂可敏感特异地与一价铜离子结合,只需室温孵育 5 min 即可形成稳定的橙黄色水溶性复合物,该橙黄色的复合物在 480 nm 处有强吸光值,吸光度和蛋白浓度在广泛范围内有良好的线性关系。

相较传统 BCA 试剂盒,本试剂盒 5min 快速反应,且在 50 μ g/ml 到 10mg/ml 的极其宽范围有良好线性;检测更快更简便。

产品特点:

1. 步骤简单,最快 5 分钟内完成测定。
2. 灵敏度高,检测浓度下限达到 20 μ g/ml,最小检测蛋白量达到 0.5 μ g,待测样品体积为 1-20 μ l。
3. 在 50 μ g/ml - 10mg/ml 浓度范围内有良好的线性关系。
4. 检测不同蛋白质分子的变异系数远小于考马斯亮蓝法蛋白定量。

(三) 注意事项

1. 蛋白标准请在**全部溶解后先混匀,再稀释**成一系列不同浓度的蛋白标准。标准品曲线配制时,如果吸量不准确或者加样枪不精确会造成标准曲线相关系数减小,可根据需要使用倍比梯度稀释的方法来配制,或者使用精确度高的加样枪。
2. Solution KA 和 Solution B 混合成**工作液**时可能会有浑浊,但充分振荡混匀后就会消失。
3. 需酶标仪一台,测定波长为 480nm;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,但是测定蛋白浓度时,需根据测定吸光度的杯子的体积,按比例调整 A 液, B 液和样品的体积。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。
4. 室温(25 $^{\circ}$ C 左右)放置 5 分钟左右即可测定,如果在室温放置 5 分钟后样品没有充分显色,孵育时间可适当延长至 30-60 分钟。但孵育时间过长会导致高浓度的蛋白标准品的吸光度达到平台而不能被用于线性标准曲线的计算。本方法测定蛋白浓度时,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,因此应控制好孵育温度和时间。

4. 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, 60, 80。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 1mM。不适用 BCA 法时建议使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。还可以考虑用超纯水稀释,透析/除盐,ACETONE/TCA 沉淀蛋白后重溶于超纯水等方法来消除干扰物质的影响。
5. 所有试剂需平衡至室温后再使用,使用完毕后各试剂应立即按照试剂盒要求的条件保存。
6. 如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景,请试用 Bradford 法蛋白定量试剂盒(目录号: ZD302)。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

1. 使用时将 Solution KA 摇晃混匀,根据样品数量,按 50 体积 Solution KA 加 1 体积 Solution B (50:1) 配制适量 BCA 工作液,充分混匀。BCA 工作液室温 30 分钟内稳定。

注:孵育时间可适当延长,若测量得到宽范围(0-10mg/ml)的线性信号,孵育时间不宜超过 10 分钟。也可加入 50 μ l 的 1M HCl 终止反应延长检测时间,但尽量在 1 小时内完成检测,以尽可能减小对实验结果的影响。

2. 蛋白标准品为即用型试剂,本试剂盒提供 10mg/ml、5mg/ml、2mg/ml、1mg/ml、0.5mg/ml、0.25mg/ml、0.125mg/ml 以及 0mg/ml 8 个浓度梯度的 BSA 标准品,可以直接使用测定宽范围标准曲线;也可以使用去离子水自行稀释至实验浓度范围测定标准曲线。



3. 检测操作（按 1 份体积的样品加入 20 倍体积的 BCA 工作液）

A. 酶标板操作

(1) 取 10 μ l 即用型 BSA 蛋白标准品加到 96 孔板的标准品孔中，各孔加入 200 μ L BCA 工作液；

孔号	0	1	2	3	4	5	6	7
蛋白标准溶液（ μ L）	10	10	10	10	10	10	10	10
蛋白浓度（mg/ml）	0	0.125	0.25	0.5	1	2	5	10

(2) 用 1 \times PBS、0.9% 生理盐水或去离子水将样品适当稀释，加 10 μ L 到 96 孔板的样品孔中，加入 BCA 工作液 200 μ L，充分混匀，室温放置 5 分钟后，即可检测；

(3) 用酶标仪测定每个样品及 BSA 标准品在 480nm 下吸光度值，注意要减去空白对照（0 号孔）的吸光度值；

(4) 根据所测样品的吸光值，绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

B. 分光光度计测定

(1) 取 50 μ l 即用型 BSA 蛋白标准品加到离心管中，每管加入 1000 μ L BCA 工作液；

孔号	0	1	2	3	4	5	6	7
蛋白标准溶液（ μ L）	50	50	50	50	50	50	50	50
蛋白浓度（mg/ml）	0	0.125	0.25	0.5	1	2	5	10

(2) 用 1 \times PBS、0.9% 生理盐水或去离子水将样品适当稀释，取 50 μ L，加入 BCA 工作液 1000 μ L，充分混匀，室温放置 5 分钟后，即可检测；

(3) 用分光光度计测定每个样品及 BSA 标准品在 480nm 下吸光度值，注意要减去空白对照（0 号孔）的吸光度值；

(4) 根据所测样品的吸光值，绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

数据处理可以采用 EXCEL 绘制 X-Y 散点图。添加趋势线获得标准曲线方程；也可以到我公司网站下载 excel 文件

<http://www.zomanbio.com/uploads/pro/142889118633.xls>

快速 BCA 蛋白定量试剂盒

目录号：ZD301K 版本：2025-4-1

试剂盒内容：

试剂盒组成	ZD301K-1 (200 次)	ZD301K-2 (500 次)	ZD301K-3 (2500 次)
Solution KA 4 $^{\circ}$ C 保存	40ml	100ml	250ml \times 2
Solution B 4 $^{\circ}$ C 保存	1ml	1ml \times 2	10ml
8 个梯度稀释的 BSA 标准蛋白溶液（0~10mg/ml） -20 $^{\circ}$ C 保存	0.1ml（8 支）	0.25ml（8 支）	0.5ml（8 支）
产品使用说明书	1 份	1 份	1 份

注：8 个梯度稀释的 BSA 标准蛋白溶液：

0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10 mg/ml ;

BSA 标准蛋白溶液（10mg/ml）可单独购买，目录号：ZS301A 包装 1ml ;
其他浓度的可以用 ddH₂O 稀释 10 mg/ml 获得。

试剂盒组成、储存、稳定性：

本产品收到后按照上面指示温度存放各成份，至少一年内有效。

蛋白标准长期保存-20 $^{\circ}$ C 放置，常温运输。