

改良型BCA蛋白浓度测定试剂盒

产品货号: 26475

产品规格: 500 assays (分光光度法) / 1000 assays (酶标板法)

产品简介:

BCA法是理想的蛋白质定量方法,在碱性环境下蛋白质分子中肽键结构与 Cu^{2+} 络合并将 Cu^{2+} 还原成 Cu^{1+} 。BCA特异地与 Cu^{1+} 结合形成稳定的紫蓝色复合物,在562nm处有最大的光吸收值并与蛋白质浓度成正比,颜色的深浅与蛋白质的含量成正比,可以根据吸收值测定蛋白质浓度。该测定方法灵敏度高,操作简单,并且受干扰物质去垢剂等影响小。本试剂盒中的特殊试剂C可以有效地降低蛋白质抽提样品中残留的还原剂对蛋白质浓度检测的干扰。当样品中的DTT浓度 $\leq 5\text{mM}$ 或 β -巯基乙醇浓度 $\leq 10\text{mM}$ 时,蛋白质浓度的测定不会受影响。

产品特点:

1. 准确灵敏,线性范围广,BCA试剂的蛋白质测定范围是25~1000 $\mu\text{g/mL}$ 。
2. 不受样品中离子型和非离子型去污剂影响。
3. 检测不同蛋白质分子的变异系数远小于考马氏亮蓝,线性关系良好。
4. 在样品中的DTT浓度 $\leq 5\text{mM}$ 或 β -巯基乙醇浓度 $\leq 10\text{mM}$ 时,光吸收值不受影响。

产品组成:

产品名称	规格	保存
5×溶液A	100mL	2-8℃
溶液B	10mL	2-8℃
试剂C	260mg	-20℃
溶液D	100mL	2-8℃
BSA标准蛋白(2mg/mL)	10mL	-20℃

操作步骤:

A. 试剂准备

1. 按照以下公式计算所需的BCA工作液总体积。
BCA工作液总体积= (标准曲线测定点数+样品数) × 重复次数 × 每个样品所需的BCA工作液体积
2. 将5×溶液A用蒸馏水稀释为1×溶液A,根据所需BCA工作液总体积,定量取溶液A:溶液B=50:1,混匀制成BCA工作液。
3. 取1000 μL 蒸馏水和1000 μL 溶液D,混匀制得溶液E。
4. 称取10mg试剂C,用500 μL 溶液E溶解,涡旋振荡1min,得到溶液F。
5. 取8支1.5mL离心管,按照下表平行操作。

溶液	0	1	2	3	4	5	6	7
溶液D(μL)	80	79	77	75	70	60	50	40
2mg/mL BSA (μL)	0	1	3	5	10	20	30	40
BSA浓度($\mu\text{g/mL}$)	0	25	75	125	250	500	750	1000

B. 分光光度法

1. 取20支1.5mL离心管,分为标准组和样品组。其中16支1.5mL离心管,每个标准品设置1个重复,各管分别加入25 μL 相应浓度梯度的标准蛋白质溶液;剩余4支1.5mL离心管,分为2个重复组,重复组离心管编号相同。其中编号不同的两管加入25 μL 不同浓度的样品稀释液。
2. 各管分别加入25 μL 溶液F, 37℃水浴中保温30min。
3. 各管加入1mL的BCA工作液,迅速混匀。
4. 在37℃水浴中保温30min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

5. 冷却至室温后，在分光光度计上测各管的 A_{562} 值。
6. 以标准组各管 A_{562} 平均值为纵坐标，对应的蛋白质浓度为横坐标，在坐标纸上或Microsoft Excel软件中绘制标准曲线。
7. 根据两个相同样品稀释液 A_{562} 值的平均值，在标准曲线上计算出该样品经过稀释后的蛋白质浓度。选择合适稀释度的样品计算最终的样品蛋白浓度，再由稀释倍数计算原样品蛋白质浓度。

C. 酶标板法

1. 选取酶标板上20个孔，分为标准组和样品组。其中16个孔，每个标准品设置1个重复，各孔分别加入5 μ l相应浓度的标准蛋白质溶液，剩余4孔，分为2个重复组，重复孔编号相同。其中编号不同的两孔加入浓度不同的5 μ l样品稀释液。
2. 各酶标孔分别加入5 μ l溶液F，37°C水浴中保温30min。
3. 再往每孔中加入200 μ l BCA工作液，迅速混匀，在37°C水浴中保温30min。
4. 冷却至室温后，在酶标仪上测各孔的 A_{562} 值。
5. 以标准组各孔 A_{562} 平均值为纵坐标，对应的蛋白质浓度为横坐标，在坐标纸上或Microsoft Excel软件中绘制标准曲线。
6. 根据两个相同样品稀释液 A_{562} 值的平均值，在标准曲线上计算出该样品经过稀释后的蛋白质浓度。选择合适稀释度的样品计算最终的样品蛋白浓度，再由稀释倍数计算原样品蛋白质浓度。

注意事项：

1. 样品稀释的倍数应使蛋白质含量在标准曲线范围之内(25~1000 μ g/mL)，若超过此范围则再需将样品酌情稀释。
2. 产品中的保存条件及有效期均以未开封情况下计算，为了防止产品与空气接触发生化学反应影响产品性能，将未使用完毕的组分按存储要求保存同时建议开封后的组分尽快使用完毕。
3. 该产品中包含配套的BSA标准蛋白溶液，由于BSA易受环境，人为，温度等因素的影响造成失效，建议收到货后将BSA溶液分成多个小管进行冷冻保存，避免反复冻融造成BSA降解失活。
4. 试剂在低温条件或长期保存出现沉淀时，可搅拌或37°C温育使其溶解，如发现细菌污染则应丢弃。
5. 试剂C须现配现用，过夜后应该废弃。
6. 同时进行实验的样品须在10min内完成吸光度的检测。
7. 若蛋白质缓冲液的pH<5，溶解试剂C时所用的溶液E应改用溶液D。
8. 当溶液A和B混合时可能会有浑浊，但混匀后就会消失，混合液在密闭情况下可保存1周。
9. 使用后请旋紧瓶盖，防止溶液挥发和与空气中的物质发生化学反应。
10. 当样品中含有儿茶酚氨类等生物氨或者脂，脂蛋白时，也会使得光吸收值升高，在含铜离子螯合试剂时，可以使得吸光度降低，这时可以用DOC-TCA法沉淀祛除。
11. BCA法受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保蛋白中残留的EDTA低于1mM，无EGTA，DTT低于5mM， β -巯基乙醇低于10mM。不适用时建议使用改良型Bradford法蛋白浓度测定试剂盒或非干扰型蛋白质定量试剂盒。
12. 如果用于酶标板法进行蛋白质定量，可以按照分光光度法的基本程序将所用试剂的量减少到分光光度法所用量1/5。
13. 在加入溶液A和B的混合液，37°C加热30min后，要让离心管冷却，否则吸光度值不太准确。
14. 本试剂盒只能用于体外实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等，由此产生的后果，概不承担责任。

有效期：24个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com