



UUBIO™增强型BCA蛋白浓度检测试剂盒

使用说明书

· 产品描述

产品编号	产品名称	产品规格
U10007A	BCA蛋白浓度检测试剂盒	500次

BCA (Bicinchoninic acid) 法是目前应用比较广泛的蛋白质浓度测定方法。基于双缩脲反应,即在碱性环境下蛋白质将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ , Cu^+ 与BCA试剂形成紫颜色的络合物,在562nm处有高的吸光值,该反应产物的量与蛋白质浓度成正比。测定其在562nm处的吸光值,并与标准曲线对比,即可计算待测蛋白的浓度。该方法快速灵敏、稳定可靠且对不同种类蛋白质变异系数很小。试剂盒中提供了浓度稳定的蛋白标准品用于制作标准曲线。

该增强型BCA蛋白浓度测定试剂盒可用于试管法检测,也可用于微孔板法检测。试管法需较大量的蛋白样品(100 μl)和工作液(2mL),蛋白样品与BCA工作液的比率为1:20 (v/v),蛋白质测定范围为20-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$,采用加强法可以检测到5 $\mu\text{g}/\text{ml}$;微孔板法操作简单方便,仅需少量(10-25 μl)的蛋白样品和工作液(200 μl),蛋白样品与工作液的比率为1:8 (v/v) 或者1:20 (v/v),蛋白质测定范围为20-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$,采用加强法可以检测到5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。我公司提供两种规格的BCA蛋白浓度检测试剂盒,比色皿法分别可做50次,250次。酶标法分别可做500次,2500次。

· 产品组成

产品编号	产品名称	包装
U10007A -1	BCA 试剂 A	100ml
U10007A -2	BCA 试剂 B	5ml
U10007A -3	BSA 标准品 2mg/ml	2ml

· 保存方法

室温保存,一年有效。

· 产品优势

1. 准确灵敏:增强型BCA试剂的蛋白质测定范围为10-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$,微孔板法试剂最低检测范围可达5-250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。



- 2.快速:比一般的BCA蛋白浓度测定试剂盒显色所用时间短,30分钟即可完成检测,比传统的Lowry法检测速度快4倍而且更加方便。
- 3.经济实用:除试管外,测定可在微孔板中进行,大大节约样品和试剂用量。
- 4.检测不同蛋白质分子的变异系数远远小于考马斯亮蓝。
- 5.可兼容样品中去污剂以及大部分化学物质的影响,可以兼容样品中5%的SDS,5%的 Triton X-100,5%的Tween-20,60,80。(详情见附录)

·使用说明

一、配制标准品和工作液

1. 配制BSA标准品体系

注:BSA标准品浓度为2mg/ml,稀释液为蛋白样品的溶解液,原则上蛋白样品在什么溶液中,标准品也宜用什么溶液稀释。但也可用水或1×PBS进行稀释。

BSA标准品体系配制表一。

表一BSA标准品体系配制(微孔板检测,线性范围20-2000 μg/ml)

Vial	稀释液体积(μl)	BSA溶液体积(μl)	BSA终浓度(μg/ml)
A	0	BSA标准液 100	2000
B	25	BSA标准液 75	1500
C	65	BSA标准液 65	1000
D	35	Vial B 35	750
E	65	Vial C 65	500
F	65	Vial E 65	250
G	65	Vial F 65	125
H	80	Vial G 20	25
I	80	0	0=Blank

表二BSA标准品体系配制(微孔板检测,线性范围5-250μg/ml)

Vial	稀释液体积(μl)	BSA溶液体积(μl)	BSA终浓度(μg/ml)
A	70	BSA标准液 10	250
B	40	Vial A 40	125
C	45	Vial B 30	50
D	40	Vial C 40	25
E	40	Vial D 10	5
F	40	0	0



2. 配制BCA工作液

1) 计算所需要的总BCA工作液体积。

总BCA工作液体积=(标准品+待测样品)×重复数×每个样品所需要的BCA工作液

注: 试管法检测时每个样品加2.0ml BCA工作液, 微孔板检测每个样品加200μl BCA工作液。

2) 配制BCA工作液: 50体积的BCA试剂A中加入1体积的BCA试剂B (A:B=50:1), 充分混匀。

注: BCA工作液装入密封容器内, 室温条件24h稳定。

二、检测方法

1. 试管检测方法 (样品: BCA工作液=1:20)

1) 各取100 μl标准品和待测样品加入到反应管中。

2) 每管加入2.0 ml BCA工作液, 混匀。根据待测样品的浓度范围选择孵育时间和温度。

标准孵育方法: 37°C孵育30 min或者室温2h (检测范围: 20-2000 μg/ml)

增强孵育方法: 60°C孵育30 min (检测范围: 5-250 μg/ml)

注: BCA检测蛋白浓度, 延长孵育时间会加深颜色反应。升高温度会加快显色反应。但是温度升高和时间延长会降低检测下限, 以及降低工作线性范围。若蛋白浓度很低, 可在较高温度孵育或者适当延长孵育时间。

3) 冷却到室温。在分光光度计上进行检测, 设定波长为562 nm, 在10分钟内对所有样品读数。

注: 由于BCA反应达不到真正的反应终点, 即使温度降低至室温生色反应液会继续。但是, 由于室温下生色比率相当低, 因此若是10min内能对所有的样本进行562nm吸光度的测试, 不会导致明显错误。

4) 根据BSA标准品的吸光度(减去标准品中空白孔的OD值即最终的读数), 绘制标准曲线(X-蛋白浓度ug/ml; Y-最终的OD562 nm)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

2. 微孔板检测方法 (样品: BCA工作液=1:8)

1) 各取25 μl标准品和待测样品加入到微孔板中。

注: 样品与工作液比例为1:8, 若样品有限, 可使用10μl标准品和待检测样品进行检测(即1:20), 这时试剂盒的检测范围为125-2000 μg/ml。

2) 每孔加入200 μl BCA工作液, 枪头吹打充分混匀。盖上微孔板, 37°C孵育30 min。

3) 冷却到室温, 在酶标仪上的562 nm波长范围处检测吸光度。

4) 根据BSA标准品的吸光度(减去标准品中空白孔的OD值即最终的读数), 绘制标准曲线(X-蛋白浓度ug/ml; Y-最终的OD562 nm)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。