

BCA 蛋白定量试剂盒

微板法检测

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

- 货号: JL-T0336
- 检测范围: 31.2-2000ug/mL
- 规格: 96T/500T
- 保存温度: 室温
- 有效期: 12 个月

BCA 简介:

目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法是：BCA 蛋白定量试剂盒 (BCA Protein Assay kit) 和 Bradford 蛋白定量试剂盒 (Bradford Protein Assay Kit), BCA 法与传统方法相比更简单、更稳定、更灵敏, BCA 法测定蛋白浓度兼容性亦很好, 不受大部分样本中其他成分的影响, 对于 5%以内的 SDS、Triton X-100、Tween 20、Tween80 具有很好的兼容性, 但 BCA 法测定蛋白浓度易受螯合剂、高浓度的还原剂等的影响, 在 BCA 法测定蛋白浓度前应尽量使: EDTA 浓度 $\leq 1\text{mM}$, 2-ME $\leq 0.01\%$ 。

灵敏度: 15.2ug/mL

适用范围: 可检测血清、血浆、培养液、动植物组织及培养细胞样本中的蛋白含量。

注意事项:

1. 蛋白标准品(BSA)粉末溶解于标准品稀释液后,即获得蛋白标准原液(即 2000ug/ml 的蛋白标准品),该原液中含有防腐剂,不影响后续检测,该蛋白标准原液-20°C 长期保存,避免反复冻融。
2. 蛋白标准品溶解于什么样的稀释液中,待测蛋白也应溶解于什么样的稀释液中,否则待测蛋白与蛋白标准品中所含非蛋白成分不一致,有可能导致测定不准确。
3. 如果检测效果不佳,可以室温放置 2h 或 60°C 放置 30min,颜色会随着时间的延长不断加深,显色反应也会随温度升高而加快;如果浓度较低,可以适当延长孵育时间或在较高温度下孵育。
4. 测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加吸光度或颜色没有明显变化,可能的原因是样品中含有严重干扰 BCA 法测定蛋白浓度的物质。
5. BCA 法检测时,待测样本中不应含有 EDTA,否则影响检测结果。
6. 因 BCA 法测定时颜色会随着时间的延长不断加深,建议每次测定时都作标准曲线,且显色反应的速度和温度有关,所以除非精确控制显色反应的时间和温度,否则每次都做标准曲线。
7. 如果没酶标仪也可用普通分光光度计测定,但应考虑根据比色皿的最小测定体积,应按比例适当加大 BCA 工作液的用量使总体积不小于最小检测体积,样品和标准品的用量亦相应按比例放大;使用分光光度计测定蛋白浓度时,可以测定的样品数量可能会显著减少。
8. 为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当加热,但是切勿过热,否则易失效。

试剂盒组成:

名称	规格 96T	规格 500T	备注
BCA 试剂 A (BCA Reagent A)	25mL	100mL	避光
BCA 试剂 B (BCA Reagent B)	1mL	3mL	无
蛋白标准品 (Protein Standard)	2mg	2mg x5	按说明书进行稀释
标准品稀释液 (standard diluent)	10mL	10mLx5	无
封板膜 (Plate Sealer)	2 张	4 张	无
说明书 Instruction Manual	1 份	1 份	无

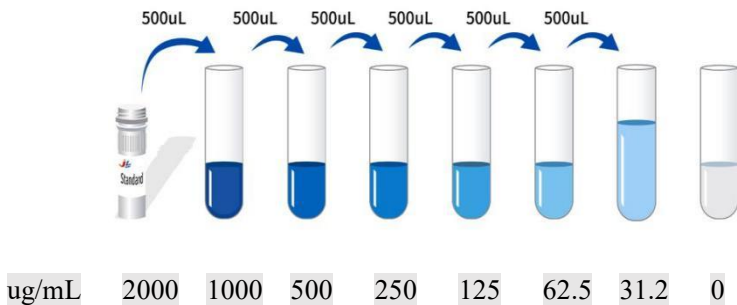
实验所需自备试验器材:

1. 酶标仪或分光光度计
2. 96 孔板或 EP 管
3. 恒温箱或水浴锅

检测前准备工作:

1. **BCA 工作液配制:** 根据样品数量, 按试剂(A):试剂(B)=50:1 的比例配制 BCA 工作液, 即取 50 份 BCA 试剂 A 和 1 份 BCA 试剂 B, 充分混匀, 即获得 BCA 工作液(注意: 正常 BCA 工作液应为苹果绿或墨绿色, 如变为紫色或其他颜色应弃用); 例如取 5ml BCA 试剂 A 和 0.1ml BCA 试剂 B, 配制成 5.1ml BCA 工作液, BCA 工作液室温 24 小时内稳定。
2. **标准品梯度工作液配制:** 取 1ml 标准品稀释液完全加入到含有 2mg 的蛋白标准(BSA)中, 充分溶解 (浓度为: 2000ug/mL), 然后按照以下浓度: 2000ug/mL、1000ug/mL、500ug/mL、250ug/mL、125ug/mL、62.5ug/mL、31.2ug/mL、0ug/mL 进行稀释。

倍比稀释方法: 取 7 支 EP 管, 每管中加入 500uL 标准品稀释液, 2000ug/mL 的标准品工作液中吸取 500uL 到第一支 EP 管中混匀配成 1000ug/mL 的标准品工作液, 按此步骤往后依次吸取混匀。最后一管直接作为空白孔, 不需要再从倒数第二管中吸取液体, 具体如下图。



操作步骤：

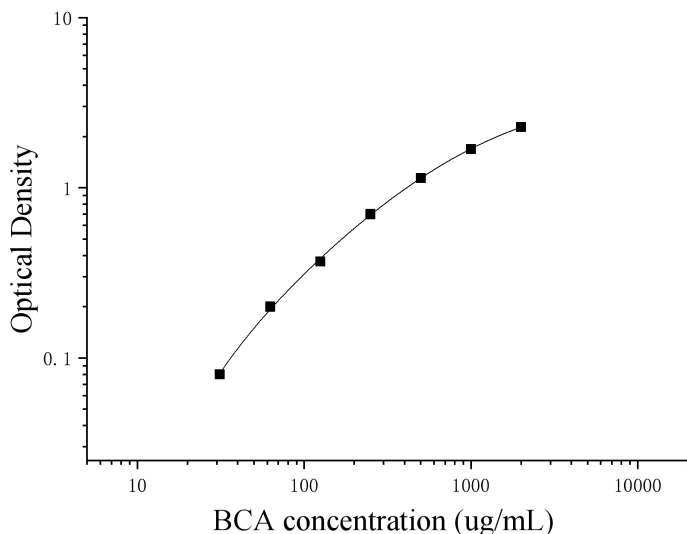
试剂盒检测范围不等于样本中待测浓度范围，建议实验前通过不同梯度预实验确定样本的实际浓度情况。如果样本蛋白浓度过高或过低，请对样本做适当稀释或浓缩。

1. 加样：分别将待测样本和不同浓度标准品按照 20ul 每孔加到 96 孔板或 EP 管中，如果样本不足 20ul，用标准品稀释液补足至 20ul，空白孔中加入 20ul 标准品稀释液。
2. 加 BCA 工作液：向各孔或 EP 管加入 200ul 配制好的 BCA 工作液，37°C 孵育 20~30min。
3. 读数：酶标仪或分光光度计测定 562nm 波长处吸光度(如无 562nm，540~595nm 之间的波长也可)。

实验结果计算：

以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。（计算时各孔吸光度减去空白孔吸光度，以求得的差值为纵坐标：以标准孔或 EP 管中蛋白浓度(ug/mL)为横坐标，得出标准曲线及回归方程，根据标准曲线计算出待测样品的蛋白浓度。）

浓度 (ug/mL)	2000	1000	500	250	125	62.5	31.2	0
OD 值	2.36	1.78	1.23	0.79	0.46	0.29	0.17	0.09
校正 OD 值	2.27	1.69	1.14	0.7	0.37	0.2	0.08	-



注意：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算标本含量。

咨询电话： 400-0066-400

传 真： 021-55660885

电子邮箱： shjls@163.com

网 址： www.jonln.com