

快速 BCA 蛋白浓度测定试剂盒

RapidBCA Protein Quantification Kit

货号: B5003

存储条件: 冰袋运输。试剂盒中 A、B 液室温或 4℃保存；蛋白标准品 (BSA) 长时间不用，可置于-20℃保存，有效期 12 个月。

产品组分

组分	组分	500T
B5003-A	试剂 A	100 ml
B5003-B	试剂 B	3 ml
B5003-C	蛋白标准品 (BSA)	8 个浓度梯度各 1mL

蛋白标准品浓度梯度及编号：
BSA 标准品①(0μg/mL)；BSA 标准品②(125μg/mL)；
BSA 标准品③(250μg/mL)；BSA 标准品④(500μg/mL)；
BSA 标准品⑤(750μg/mL)；BSA 标准品⑥(1000μg/mL)；
BSA 标准品⑦(1500μg/mL)；BSA 标准品⑧(2000μg/mL)；

产品说明

快速蛋白定量试剂盒的原理与传统 BCA 蛋白定量法类似，但采用了一种不同于 BCA(Bicin-chonicAcid)的全新特殊的螯合剂，从而实现了蛋白质浓度进行快速、稳定、灵敏的测定。其原理是在碱性环境下蛋白质分子中的肽键能与 Cu²⁺形成络合物，将 Cu²⁺还原成 Cu⁺，Cu⁺与螯合物结合，从而发生颜色反应。本试剂盒中的螯合剂可敏感特异地与 Cu⁺结合，只需室温孵育 5min 即可形成稳定的橙黄色水溶性复合物，而传统 BCA 法则需在 37℃下孵育 30min 才可完成颜色反应。该橙黄色的复合物在 480nm 处有强吸收值，颜色的深浅与蛋白质浓度成正比，可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量。本试剂盒含有一系列浓度的蛋白质标准品溶液(BSA 溶液)，即取即用，无需稀释，方便快捷。

- 1) **简单快速**---室温 5min 完成显色反应。
- 2) **方便快捷**---提供 BSA 即用型蛋白标准品，省去稀释步骤。
- 3) **线性范围广**---灵敏检测 20-2000μg/mL 浓度范围内有较好的线。
- 4) **兼容性好**---不受大部分样品中的化学物质的影响。

操作说明 (以微孔酶标仪为例)

一、配置显色工作液

1.计算显色工作液总量

工作液总量 = (BSA 标准品样本个数 + 待测样本个数) × 复孔数 × 每个样本显色工作液体积

举例: BSA 标准品样本个数为 8 个，待测样本个数 3 个，复孔数 3 个。

显色工作液总量 = (8 个 BSA 标准品样本 + 3 个待测样本) × 3 个复孔 × 200μL(每个样本工作液体积) = 6.6mL

2.根据计算出的显色工作液需要总量，将试剂 A 和试剂 B 按照 50:1 的体积比，配制显色工作液，充分混匀。

【注意】

- 1) 试剂 B 刚加入试剂 A 时，会出现灰蓝色沉淀，但只需混匀几秒钟，沉淀就会消失，形成透亮的绿色溶液；
- 2) 建议工作液现用现配，在室温下，工作液会逐渐变为深绿色，但只要在 1.5h 内使用，对定量的准确性不会造成影响；
- 3) 由于加样可能存在误差，建议配制 BCA 工作液时，多配制 1~2 个孔。

二、定量检测

1. 分别取即用型 BSA 标准品①~⑧各 20μL 加到 96 孔板中(BSA 标准品使用前须充分溶解摇匀)；

孔号	1	2	3	4
添加物	标准品①	标准品②	标准品③	标准品④
体积 (μL)	20	20	20	20
BSA 终浓度(μg/mL)	0	125	250	500
孔号	5	6	7	8
添加物	标准品⑤	标准品⑥	标准品⑦	标准品⑧
体积 (μL)	20	20	20	20
BSA 终浓度(μg/mL)	750	1000	1500	2000

2. 用 1xPBS 或 0.9%生理盐水将样品适当稀释(可以多作几个梯度，如 2 倍、4 倍、8 倍稀释)，加 20 μL 到 96 孔板的样品孔中。
3. 各孔加入 200 uL 显色工作液，充分混匀，盖上 96 孔板盖，室温孵育 5min，即可进行检测。

【注意】由于颜色反应速度较快，须保证在 20-30 min 之内完成读值。如果必须在 30 min 后读值，可提前加入 50 μL 1M HCl 终止反应。

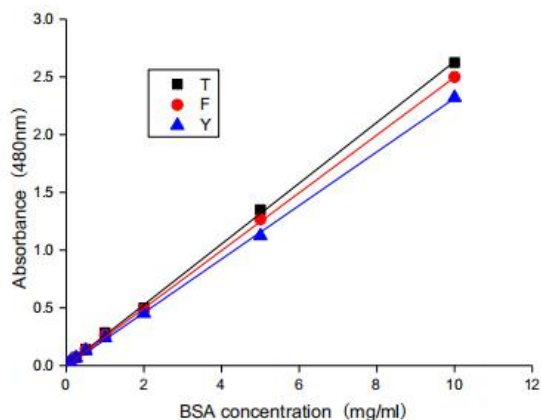




4. 用酶标仪测定每个样品及 BSA 标准品的 A_{480} , 注意要减去空白对照(标准品① + 工作液)的 A_{480} ;

5. 绘制标准曲线, 计算样品中的蛋白浓度。

【注意】数据处理时需要去除明显错误的值。待测样品浓度可以从标准曲线中查得, 实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。如果是计算机绘制的曲线, 可以从计算机给出的线性方程式计算出待测样品的浓度。



6. 注意事项

- 1) 本产品可以采用酶标仪(微孔检测法)或者分光光度计(试管检测法)测定蛋白浓度, 如使用普通的光分光光度计测定, 需根据比色皿的最小检测体积, 适当加大 BCA 工作液的用量使不小于最小检测体积, 样品和标准品的用量可相应按比例放大也可不变。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。
- 2) 完成室温孵育 5 min 后, 须在 20~30 min 内完成检测, 否则会影响蛋白定量的准确度。
- 3) 实验操作规范, 提高上样量的精确度。
- 4) 每次测定都需做相应的标准曲线, 因为显色反应与温度和时间的变化有关, 精准蛋白定量宜每次都做标准曲线。
- 5) 如待测样品中含较多的干扰物质(具体见附表), 可采用其它蛋白定量产品。
- 6) 本产品仅限于专业人员用于科学研究, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内,
- 7) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

