

BCA 蛋白浓度检测试剂盒

(货号: SB-WB013, 试剂盒包含 250ml A+12.5ml B+10mg BSA)

产品描述

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 562 nm 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 562 nm 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。

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 (2 mL), 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 $\mu\text{g/ml}$, 采用加强法可以检测到 5 $\mu\text{g/ml}$; 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 $\mu\text{g/ml}$, 采用加强法可以检测到 5 $\mu\text{g/ml}$ 。我公司提供的 BCA 蛋白浓度检测试剂盒, 比色皿法分别可做 125 次, 酶标法可做 1250 次。

产品组成

产品编号	产品名称	包装
SB-WB013-1	BCA 试剂 A	250 ml
SB-WB013-2	BCA 试剂 B	12.5 ml
SB-WB013-3	BSA 标准品 2 mg/ml	5*1 ml

保存方法

室温保存, 一年有效。

产品优势

- 1) 准确灵敏: BCA 试剂的蛋白质测定范围为 10-2000 $\mu\text{g/ml}$, 微孔板法试剂最低检测范围可达 5-250 $\mu\text{g/ml}$ 。
- 2) 快速: 30 分钟即可完成检测, 比传统的 Lowy 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 2 mg/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 $\mu\text{g/ml}$ ）

Vial	稀释液体积(μl)	BSA 溶液体积(μl)	BSA 终浓度($\mu\text{g/ml}$)
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 5-250 $\mu\text{g/ml}$ ）

Vial	稀释液体积(μl)	BSA 溶液体积(μl)	BSA 终浓度($\mu\text{g/ml}$)
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 = (标准品数量 + 待测样品数量) $\times$ 重复数 $\times$ 每个样品所需要的 BCA 工作液

注：试管法检测时每个样品加 2.0 ml BCA 工作液，微孔板检测每个样品加 200 μl 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 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 或者室温 2h（检测范围：20-2000 $\mu\text{g/ml}$ ）

增强孵育方法：60 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min（检测范围：5-250 $\mu\text{g/ml}$ ）

注意：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。

注意：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 10 min 内能对所有样本进行 562 nm 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 $\mu\text{g/ml}$; Y-最终的 $\text{OD}_{562\text{nm}}$)。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 10 μl 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 $\mu\text{g/ml}$ 。

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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $\mu\text{g/ml}$; Y-最终的 $\text{OD}_{562\text{nm}}$)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。