

Easy II Protein Quantitative Kit (BCA) 蛋白定量试剂盒 (BCA)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: DQ111

保存: BSA Standard Solution 在-18°C及其以下温度下保存两年, 其它室温保存一年。

产品说明

BCA蛋白定量方法, 原理是在碱性条件下, 蛋白质中的肽键能将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ (双缩脲反应), 且 Cu^{2+} 的还原量与总蛋白量成正比, 生成的 Cu^+ 能够与BCA形成稳定的紫色化合物。与Bradford方法相比, BCA蛋白定量方法更加客观, 普通的肽键即可发生颜色反应, 亦可兼容高浓度的SDS (5%), Triton X-100(5%), NP 40 (5%), CHAPS (5%), Tween 20, 60, 80 (5%), 其缺点是易受某些还原剂(如二硫苏糖醇和 β -巯基乙醇等)、螯合剂(EDTA, EGTA)和高浓度缓冲液的影响, 但这些干扰作用可以通过对蛋白质样品的稀释进行消除。

测定范围: 20-2000 $\mu\text{g/ml}$ 。

试剂盒组成

Component	DQ111-01
BCA Solution A	100 ml
BCA Solution B	3 ml
BSA Standard Solution (2 mg/ml)	2×1 ml

[可用于 500 rxns (酶标仪), 50 rxns (分光光度计)检测]

适用范围

本检测方法可耐受的干扰物质浓度表

干扰物质	耐受浓度	干扰物质	耐受浓度
盐/缓冲液		去垢剂	
HEPES (pH7.9)	100 mM	NP 40	5%
PIPES (pH6.8)	100 mM	Triton X-100	5%
Ammonium sulfate	1.5 M	CHAPS, CHAPSO	5%
Sodium chloride	1 M	SDS	5%
Sodium bicarbonate	100 mM	Tween 20	5%
MOPS (pH7.2)	100 mM	Tween 60	5%
Sodium citrate	200 mM	Tween 80	5%
TRICINE (pH8.0)	25 mM	其他化合物	
Sodium Acetate	200 mM	PMSF	1 mM
Guanidine·HCl	4 M	Acetone	10%
Tris	250 mM	Ethanol	10%
螯合剂		Glycerol	10%
EDTA	10 mM	Urea	3 M
还原剂		DMSO	10%
DTT	1 mM	Sucrose	40%
2-Mercaptoethanol	0.01%		



操作方法

(一)酶标仪检测

- 1、使用1×PBS(自备)将BSA Standard Solution稀释为500 µg/ml;
- 2、根据样品数,将BCA Solution A和BCA Solution B按50:1的比例稀释成工作液,充分混匀后,24小时内使用;
- 3、按照下表,在96孔板的样品孔中对稀释后的标准液进行配制

编号	A	B	C	D	E	F	G	H
BSA Standard Solution (µl)	0	1	2	4	8	12	16	20
1×PBS (µl)	20	19	18	16	12	8	4	0
BSA浓度 (µg/ml)	0	25	50	100	200	300	400	500

- 4、用1×PBS(自备)将待测样品按照一定比例稀释后,取20 µl加入96孔板的样品孔中;
- 5、向样品孔中加入200 µl的BCA工作液,37℃放置30-90分钟(也可室温放置2小时,或60℃放置30分钟);
- 6、将96孔板置于562 nm波长下检测,如无562 nm波长,可以选择在540~595 nm波长下测量;
- 7、绘制标准曲线,计算待测蛋白样品浓度。

(二)分光光度计检测

- 1、使用1×PBS(自备)将BSA Standard Solution稀释为500 µg/ml;
- 2、根据样品数,将BCA Solution A和BCA Solution B按50:1的比例稀释成工作液,充分混匀后,24小时内使用;
- 3、取8个1.5 ml离心管,分别编号为A-H,按照下表,在管中对稀释后的标准液进行配制

编号	A	B	C	D	E	F	G	H
BSA Standard Solution (µl)	0	2.5	5	10	20	30	40	50
1×PBS (µl)	50	47.5	45	40	30	20	10	0
BSA浓度 (µg/ml)	0	25	50	100	200	300	400	500

- 4、用1×PBS(自备)将待测样品按照一定比例稀释后取50 µl加入1.5 ml离心管;
- 5、在步骤3和4的离心管中各加入500 µl的BCA工作液,振荡混匀后,37℃放置30-90分钟(也可室温放置2小时,或60℃放置30分钟);
- 6、取200 µl步骤5的反应产物加入比色皿中,以A号离心管内的反应产物做为阴性对照,用分光光度计测定样品的吸光值,波长为562 nm,如无562 nm波长,可以选择在540~595 nm波长下测量;
- 7、绘制标准曲线,计算待测蛋白样品浓度。

注意事项

- 测量波长为540~595 nm之间,562 nm最佳;
- 如果没有酶标仪,也可使用分光光度计测量;利用分光光度计检测的所有样品需平衡至室温,并且在10分钟内检测并记录,否则由于反应的持续会产生较大误差;
- 为保证测量的准确性,请确保稀释后的蛋白样品浓度落在标准曲线内;
- 不适用BCA蛋白定量方法检测(如二硫苏糖醇浓度高于1 mM,β-巯基乙醇浓度高于0.01%,EDTA浓度高于10 mM,或样品中存在EGTA),请使用TransGen Easy Protein Quantitative Kit (Bradford),目录号:DQ101;
- 可以通过适度加温,加快反应速度,但切勿过热,以免样品受热不均,导致结果误差;
- 蛋白测定时,每个样品需做2~3个重复,以获得更准确的结果。

本产品仅供研究,不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

