

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01206

产品介绍

即用型 BCA 蛋白定量检测试剂盒是一种基于二喹啉甲酸 BCA (Bicinchoninic Acid), 利用比色法测定总蛋白浓度的试剂盒, 是目前广泛使用的蛋白定量方法之一。其原理为在碱性条件下蛋白质中的肽键将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ , BCA 螯合 Cu^+ 作为显色剂, 产生蓝紫色复合物并在 562 nm 处有吸收峰, 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。

即用型 BCA 蛋白定量检测试剂盒是在常规 BCA 蛋白定量试剂盒基础上研制的含有一系列浓度的蛋白质标准品 (BSA 溶液), 即取即用, 无需稀释, 方便快捷。

应用范围

蛋白定量

储运条件

2~8 °C 保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

准确度高: 标准拟合曲线 R^2 高达 3 个 99 以上;

线性范围广: 可检测 20~2000 $\mu\text{g/mL}$;

使用方便: 即用型, 标品无需稀释, 即开即用。

注意事项

1. 试剂 A 如果低温条件下出现絮状结晶时, 可 37 °C 使其完全溶解, 不影响使用。
2. 试剂组分使用前请先上下颠倒混匀。
3. 建议每次测定蛋白样品时, 都要绘制标准曲线, 使测量结果准确。
4. 为了提高样品测量结果的准确性, 样品浓度不宜太高或者太低, 否则需要提前稀释或者浓缩。
5. 本产品仅限于科研, 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。
- 6 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1. 耗材: 96 孔酶标板
2. 试剂: PBS
3. 仪器: 酶标仪

操作步骤

1. 试剂组分准备

将试剂盒中组分 A、B 和即用型 BSA 标准品 4 °C 冰箱取出恢复至室温, 上下颠倒混匀备用。

2. BCA 工作液配制

(1) 计算确定所需的工作液的总体积:

BCA 工作液的总量 = (BSA 标准品样本个数 + 待测样本个数) $\times$ 复孔数 $\times$ 每个样本所需 BCA 工作液的体积

举例：本次试剂盒质检需要做 BSA 标准品样本个数为 8 个，待测样本个数 3 个，复孔数为 3 个。
BCA 工作液的总量 = $(8 + 3) \times 3 \times 200 \mu\text{L}$ （每个样本工作液体积）= 6.6 mL
(2) 根据计算出的 BCA 工作液的体积，将试剂 A 与试剂 B 按照 50: 1 的体积比，配制 BCA 工作液，并充分混匀。
注：1) 由于加样可能存在误差，建议配制工作液的时候多配制 1~2 个孔的量。
2) 当试剂 B 加入到试剂 A 时，开始可观察到有浑浊产生，属于正常现象，经搅拌后浑浊会迅速消失，得到苹果绿色澄清工作液。

3.蛋白浓度测定（96 孔板为例）
(1) 取各个稀释浓度的 BSA 标准品 20 μL ，加入到 96 孔透明板中。
(2) 在每个孔中加入 200 μL 工作液充分混匀，盖上 96 孔板，37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱孵育 30 min。
(3) 用酶标仪测定每个样品及 BSA 标准品的 A562 或者 540~590 nm 之间的其它波长的吸光度。
(4) 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

注：1) 每个样品及 BSA 标准品的 A562 需要减去空白对照的吸光度。
2) 数据处理时需要剔除明显异常的点或者数值。
3) 样品浓度如果太高超过上限（2000 $\mu\text{g/mL}$ ）应该适当进行稀释，样品浓度太低建议适当浓缩

附录

表 1 干扰物质耐受浓度

干扰物质	耐受浓度	干扰物质	耐受浓度
Ammonium sulfate	1.5 M	Deoxycholic acid	5%
EPPS, pH 8.0	100 mM	NP-40	5%
Glycine·HCl,pH2.8	100 mM	SDS	1%
Guanidine·HCl	4 M	Triton X-100	5%
HEPES, pH 7.5	100 mM	Tween-20	5%
Imidazole, pH 7.0	50 mM	EDTA	2 mM
MOPS, pH7.2	100 mM	DTT	0.1 mM
PIPES, pH6.8	100 mM	Glucose	10 mM
Sodium azide	0.2%	2-Mercaptoethanol	0.01%
Sodium bicarbonate	100 mM	DMSO	10%
Sodium chloride	1 M	Ethanol	10%
Tris	250 mM	Glycerol	10%
EGTA	1 mM	β -巯基乙醇	150 μM