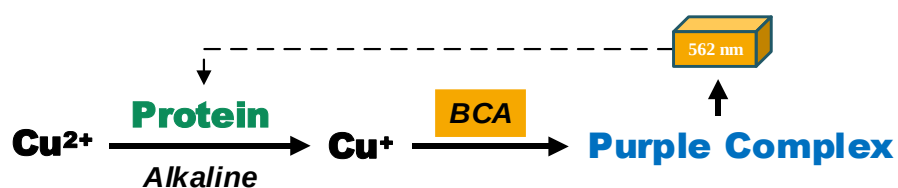




BCA 法蛋白含量检测试剂盒

BCA Protein Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



BCA 法蛋白含量检测试剂盒

BCA Protein Content Assay Kit

一、产品描述

BCA (Bicinchoninic Acid) 蛋白含量检测法用于总蛋白质定量的常用方法，BCA 与二价铜离子混合即为 BCA 工作液，蛋白在碱性条件下能够将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ， Cu^+ 与 BCA 试剂可形成紫色络合物，产物在 562 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测样品的蛋白浓度。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
BCA Solution	液体 120 mL×1 瓶	RT
Copper Solution	液体 3 mL×1 瓶	RT
PBS Diluent	液体 30 mL×1 瓶	RT
BSA Standard Solution (5 mg/mL BSA)	液体 1 mL×1 支	-20°C 保存 (使用前恢复至室温)

三、产品使用说明

1. 分光光度计法

- ① 样品稀释：将样品按适当倍数稀释，建议多做几个梯度进行检测（可参考进行 2、4、8 倍稀释）；
- ② BCA 工作液的制备：根据使用量按 BCA Solution: Copper Solution = 50:1 (V:V) 配制为 BCA 工作液，充分混匀（可能会有浑浊，充分混匀后即可溶解），BCA 工作液室温保存 24 h 内有效；
- ③ 蛋白标准稀释液的制备：取 100 μL BSA Standard Solution 使用 PBS Diluent 稀释至 1000 μL （稀释液应与待测蛋白样品溶液一致，也可参考使用生理盐水作为稀释液），即为 0.5 mg/mL 蛋白标准稀释液。使用 0.5 mg/mL 蛋白标准稀释液，按下表进行梯度稀释：

编号	1	2	3	4	5	6
蛋白标准稀释液 (μL)	0	40	80	120	160	200
PBS Diluent (μL)	200	160	120	80	40	0
蛋白终浓度 (mg/mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5

④在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)
稀释样品	100	-
蛋白标准稀释液	-	100
BCA 工作液	1000	1000
充分均匀，37°C显色 15-30 min		

吸光值测定：测定 562 nm 处测定管和标准管吸光值，记为 A 测定和 A 标准。

标准曲线的制备及使用：以 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 为横坐标 (x)，对应的 A 标准为纵坐标 (y)，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 A 测定带入公式中计算 x (mg/mL)，乘以相应稀释倍数即为样品蛋白浓度。

2. 酶标仪法

①样品稀释：将样品按适当倍数稀释，建议多做几个梯度进行检测(可参考进行 2、4、8 倍稀释)；

② BCA 工作液的制备：根据使用量按 BCA Solution: Copper Solution = 50:1 (V:V) 配制为 BCA 工作液，充分混匀（可能会有浑浊，充分混匀后即可溶解），BCA 工作液室温保存 24 h 内有效；

③蛋白标准稀释液的制备：取 10 μL BSA Standard Solution 使用 PBS Diluent 稀释至 100 μL （稀释液应与待测蛋白样品溶液一致，也可参考使用生理盐水作为稀释液），即为 0.5 mg/mL 蛋白标准稀释液。使用 0.5 mg/mL 蛋白标准稀释液，按下表进行梯度稀释：

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
蛋白标准稀释液 (μL)	0	2	4	6	8	12	16	20
PBS Diluent (μL)	20	18	16	14	12	8	4	0
蛋白终浓度 (mg/mL)	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.40	0.50

④在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)
稀释样本	20	-
蛋白标准稀释液	-	20
BCA 工作液	200	200
充分均匀，37°C显色 15-30 min		

吸光值测定：测定 562 nm 处测定管和标准管吸光值，记为 A 测定和 A 标准。

标准曲线的制备及使用：以 0、0.05、0.1、0.15、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 为横坐标 (x)，对应的 A 标准为纵坐标 (y)，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 A 测定带入公式中计算 x (mg/mL)。

四、注意事项

①Copper Solution 与 PBS Diluent 可置于 2-8°C 长期保存, 若发现污染浑浊则应丢弃; BCA Solution 在低温条件下出现结晶沉淀时, 可 37°C 温育使其完全溶解, 不影响使用;

②为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;

③BCA 法测定蛋白含量不受绝大部分样品中化学物质的影响, 样品中 5% SDS、5% Triton X-100、5% Tween20、60、80 等常用浓度去垢剂不影响检测结果, 但 EDTA 和 EGTA 等螯合剂、DTT 和巯基乙醇等还原剂和脂类会影响检测结果, 需确保 EDTA 低于 10 mM、无 EGTA、二硫苏糖醇低于 1 mM、巯基乙醇低于 0.01%; 若样品含有较多干扰物质且本身背景值较高, 建议使用 Bradford 法蛋白含量检测试剂盒 (Cat AKPR015);

④若蛋白浓度较低时 (小于 50 $\mu\text{g/mL}$), 可将显色温度提高至 60°C 且待测样本与工作液比例调整为 1:8 进行测定, 能够明显提高灵敏度至 5 $\mu\text{g/mL}$;

⑤为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

