

BCA Protein Quantification Kit (Ready to use)

BCA 蛋白浓度测定试剂盒(即用型)

产品简介

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^+ ，产生一种紫蓝色复合物，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。BCA 蛋白浓度测定法实现了蛋白质浓度测定的简便、灵敏、快速和稳定性。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。可用于比色皿法检测，也可用于微孔板法检测，比色皿法可做 50 次，酶标法可做 500 次。另外，我司亦提供可供客户根据本身需求制作标准品浓度的增强型 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（Cat#20201ES，试剂盒中提供的蛋白标准品为用户制作标准曲线提供了便利）。

产品特点

1. 方便快捷，提供即用型标准品，省去繁琐的稀释步骤。
2. 速度快，比一般的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒显色所用时间短。比传统的 Lowry 法检测速度约快 4 倍。
3. 线性范围广，20-2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内有较好的线性范围。
4. 不受大部分样品中的化学物质的影响，**详情见附表 1**。

产品信息

| 类别 | 组分编号 | 组分名称 | 20200ES76 (500 T) | 储存 |
|---------|---------|--|----------------------|-----------|
| Part I | 20200-A | BCA 试剂 A | 100 mL | 室温 |
| | 20200-B | BCA 试剂 B | 3 mL | 室温 |
| Part II | 20200-C | 蛋白标准品 (BSA, 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) | 1.5 mL | -25~-15°C |
| | 20200-D | 蛋白标准品 (BSA, 1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) | 1.5 mL | -25~-15°C |
| | 20200-E | 蛋白标准品 (BSA, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) | 1.5 mL | -25~-15°C |
| | 20200-F | 蛋白标准品 (BSA, 750 $\mu\text{g}/\text{mL}$) | 1.5 mL | -25~-15°C |
| | 20200-G | 蛋白标准品 (BSA, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) | 1.5 mL | -25~-15°C |
| | 20200-H | 蛋白标准品 (BSA, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) | 1.5 mL | -25~-15°C |
| | 20200-I | 蛋白标准品 (BSA, 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) | 1.5 mL | -25~-15°C |
| | 20200-J | 蛋白标准品 (BSA, 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) | 1.5 mL | -25~-15°C |

储存条件

Part I 中的 BCA 试剂 A、BCA 试剂 B 室温保存；

Part II 中的即用型蛋白标准品 (BSA) 可置于 -25~-15°C 保存，有效期 1 年。

使用说明

1. 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+待测样品) × 重复数 × 每个样品所需要的 BCA 工作液

【注】：比色皿检测时每个样品加 2.0 mL BCA 工作液，微孔板检测每个样品加 200 μ L 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 试剂 B 加入 BCA 试剂 A 中后，迅速浑浊，通过混匀后立即变澄清。BCA 工作液装入密封容器内，室温条件 24 h 稳定。

2. 检测方法

2.1 比色皿检测方法 (样品：BCA 工作液=1:20)

1) 各取 100 μ L 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。37°C 孵育 30 min。

【注】：也可室温孵育 2 h，或者 60°C 孵育 30 min。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。分光光度计检测，设定波长为 562 nm。用装满水的比色皿对仪器校零。在 10 min 内对所有样品读数。

【注】：由于 BCA 反应达不到真正的反应终点，即使温度降低至室温显色反应也会继续。但是，由于室温下显色比率相当低，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 μ g/mL; Y-最终的 OD_{562nm})。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

2.2 微孔板检测方法 (样品：BCA 工作液=1:8)

1) 各取 25 μ L 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 μ L 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 μ g/mL。

2) 每孔加入 200 μ L BCA 工作液，振荡 30s 充分混匀。盖上微孔板，37°C 孵育 30 min。

3) 冷却到室温，在酶标仪上的 540-595 nm 波长范围处检测吸光度，其中 562 nm 波长为最佳。

【注】：a) 由于酶标板的光径比比色皿短，使得酶标板检测需要更好的样品：BCA 工作比率来获得相同的检测灵敏度。若使用高于 562nm 的检测波长，建议延长孵育时间到 2 h。b) 延长孵育时间或者提高样品：BCA 工作比会增高每个孔的 OD_{562nm} 净值，并且降低检测下限和工作线性范围。

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 μ g/mL; Y-最终的 OD_{562nm})。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

注意事项

1. 使用 BCA 蛋白测定法测定时颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应的速度和温度有关，因此需注意保持定时和定温，以确保精确定量。

2. 低温或长期保存，若发现 BCA 试剂 A 或者试剂 B 有沉淀发生。请 37°C 温育并伴随搅拌促使其充分溶解。如发现细菌污染，则应丢弃，避免对实验结果造成影响。

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，精准的蛋白定量宜每次都做标准曲线。

5. 本产品仅作科研用途！

6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

附表：BCA 蛋白浓度测定的兼容性

| 名称 | 耐受浓度 |
|---|----------------------------|
| Sodium bicarbonate | 100 mM |
| Sodium phosphate | 25 mM |
| 2-Mercaptoethanol | 0.01% |
| Glycercol (pure) | 10% |
| Glycine-HCl, pH2.8 | 100 mM |
| HEPES | 100 mM |
| Hydrochloric acid | 100 mM |
| Leupeptin | 10 mg/L |
| Nickel chloride (in TBS, pH8.0) | 10 mM |
| Nonidet P-40 (NP-40) | 5% (w/v) |
| Octyl β -glucoside | 5% (w/v) |
| Potassium thiocyanate | 3.0 M |
| SDS | 5% |
| Sodium acetate, pH4.8 | 200 mM |
| Sodium azide | 0.20% |
| Sodium hydroxide | 100 mM |
| Sucrose | 40% |
| Triton X-100 | 5% |
| Triton X-114, X-305,X-405 | 1% |
| Tween-20, Tween-60, Tween-80 | 5% |
| Zwittergent | 1% |
| ACES, pH7.8 | 25 mM |
| Acetone | 10% |
| Acetonitrile | 10% |
| Ammonium sulfate | 1.5 mM |
| Aprotinin | 10 mg/L |
| Bicine, pH8.4 | 20 mM |
| Bis-Tris, pH6.5 | 33 mM |
| Borate, pH8.5 | 50 mM |
| Brij-35 | 5% |
| Brij-52 | 1% |
| Brij-56, Brij-58 | 1% |
| BugBuster protein Extraction Reagent (Cat. No. 70584) | nointerference (undiluted) |
| Calcium chloride (in TBS, pH8.0) | 10 mM |
| Cellytic B Reagent | nointerference (undiluted) |
| Cesium bicarbonate | 100 mM |
| CHAPS | 5% |
| Cobalt chloride (in TBS, pH8.0) | 0.8 mM |

| | |
|--|----------------------------|
| CytoBuster Protein Extraction Reagent (Cat. No. 71009) | nointerference (undiluted) |
| Deoxycholic acid | 5% |
| Dithioerythritol (DTE) | 1 mM |
| Dithiothreitol (DTT) | 1 mM |
| DMF | 10% |
| DMSO | 10% |
| EDTA | 10 mM |
| EPPS, pH8.0 | 100 mM |
| Ethanol | 10% |
| Ferric chloride (in TBS, pH8.0) | 10 mM |
| Glucose | 10 mM |
| Glycerol | 10% |
| Guanidine-HCl | 4 M |
| Imidazole, pH7.0 | 50 mM |
| MES, PH6.1 | 100 mM |
| Methanol | 10% |
| MOPS, pH7.2 | 100 mM |
| N-Acetylglucosamine (10mM) in PBS, pH7.2 | 10 mM |
| Octyl β -thioglucopyranoside | 5% |
| PIPES, pH6.8 | 100 mM |
| PMSF | 1 mM |
| PopCulture Reagent (Cat. No. 71092) | nointerference (undiluted) |
| Reportasol Extraction Buffer (Cat. No. 70909) | nointerference (undiluted) |
| Sodium chloride | 1 M |
| Sodium citrate, pH4.8 or pH6.4 | 200 mM |
| Sodium ortho-vanadate in PBS, pH7.2 | 1 mM |
| Span 20 | 1% |
| TBS (150 mM NaCl, 100 mM Tris-HCl, pH8.0) | nointerference (undiluted) |
| Thimerosal | 0.01% |
| TLCK | 0.1 mg/L |
| TPCK | 0.1 mg/L |
| Tricine, pH8.0 | 25 mM |
| Triethanolamine, pH7.8 | 25 mM |
| Tris | 250 mM |
| Tris (hydroxypropyl) phosphine (THP) | 1 mM |
| Urea | 3 M |
| Zinc chloride (in TBS, pH8.0) | 10 mM |