

BCA 试剂盒

货号: GK3000

规格: 100 mL (500T)

保质期: 1 年

产品信息:

名称	规格	保存
BCA 试剂	100mL	室温
Cu 试剂	3mL	室温
PBS 稀释液	30mL	室温
BSA 蛋白标准(5mg/mL BSA)	1mL	-20℃

产品简介:

碱性条件下, 蛋白将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ , Cu^+ 与 BCA 试剂形成紫蓝色的络合物, 测定其在 562nm 处的吸收值, 并与标准曲线对比, 即可计算待测蛋白的浓度。常用浓度的去垢剂 SDS, Triton X-100, Tween 不影响检测结果, 但受螯合剂(EDTA, EGTA)、还原剂(DTT, 巯基乙醇)和脂类的影响。实验中, 若发现样品稀释液或裂解液本身背景值较高, 可试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。

操作说明:

一. 微孔酶标仪法

1. 配制工作液: 根据标准品和样品数量, 按 50 体积 BCA 试剂加 1 体积 Cu 试剂 (50:1) 配制成 BCA 工作液, 充分混匀(混合时可能会有浑浊, 但混匀后就会消失)。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。
2. 稀释标准品: 取 10 μL BSA 标准品用 PBS 稀释至 100 μL (样品一般可用 PBS 稀释), 使终浓度为 0.5mg/mL。将标准品按 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 μL 加到 96 孔板的蛋白标准品孔中, 加 PBS 补足至 20 μL 。
3. 将样品作适当稀释 (最好多做几个梯度, 如作 2 倍、4 倍、8 倍稀释), 加 20 μL 到 96 孔板的样品孔中。由于移液器在取小量样品时误差偏大, 标准线前面的点可能不很准确, 所以尽可能的让样品点落在标准线 1/2 后。

4. 各孔加入 200 μL BCA 工作液, 37℃ 放置 15-30 分钟。用酶标仪测定 A562nm, 根据标准曲线计算出蛋白浓度。使用温箱孵育时, 应注意防止因水分蒸发影响检测结果。

二. 分光光度计法

如没有酶标仪, 可用分光光度计在离心管中混匀后加入比色皿中比色。步骤如下:

1. 配制工作液: 根据标准品和样品数量, 按 50 体积 BCA 试剂加 1 体积 Cu 试剂 (50:1) 配制成 BCA 工作液, 充分混匀(混合时可能会有浑浊, 但混匀后就会消失)。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。
2. 稀释标准品: 取 100 μL BSA 标准品用 PBS 稀释至 1mL (样品一般可用 PBS 稀释), 使终浓度为 0.5mg/mL。
3. 取八支 (或者更多) 5mL 离心管, 标上号, 按下表加入试剂。

离心管号	标准蛋白 BSA	PBS	BCA 工作液
1	0	200 μL	2ML
2	40 μL	160 μL	2ML
3	80 μL	120 μL	2ML
4	120 μL	80 μL	2ML
5	160 μL	40 μL	2ML
6	200 μL	0	2ML
7 (样品管 1)	200 μL	0	2ML
8 (样品管 2)	200 μL	0	2ML
9 (样品管 3)	0	2ML

4. 37℃ 放置 15-30 分钟。用分光光度计测 562nm 处吸光值, 根据标准曲线计算出蛋白浓度。

注意事项:

1. 长期不用时, Cu 试剂与 PBS 稀释液可置于 2-8℃ 保存, 如发现细菌污染则应丢弃。BCA 试剂在低温条件下出现结晶沉淀时, 可 37℃ 温育使其完全溶解, 不影响使用。
2. 样品中若含有较多干扰物质时, 请采用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。