

NCM BCA Protein Assay Kit

BCA 蛋白定量试剂盒

货号: Cat.No: WB6501 Size: 500 次

● 产品介绍

BCA (Bicinchoninic Acid) 蛋白定量法是目前广泛应用的蛋白定量方法之一, 可实现对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。该定量的原理是在碱性介质中, 蛋白质可将 Cu^{2+} 还原成 Cu^{1+} 的反应, 然后使用含有 BCA 的独特试剂, 利用比色法检测 Cu^{1+} , 形成一种在 562nm 处有强吸收值的紫色复合物。通过与标准品曲线对比, 获得待测蛋白的浓度, 具有高灵敏度和高选择性的特点。

● 产品特点

1. 不受蛋白质种类的影响, 在 0.02-2mg/ml 浓度范围内蛋白质浓度与吸光值成线性关系
2. 对表面活性剂的干扰影响小
3. 蛋白浓度测定简单、显色速度快和稳定性好

● 操作步骤

1. 稀释 BSA 标准品: 用与待测蛋白样品一致的稀释液按下表稀释 BSA 标准品。

管号	稀释液用量 (ul)	BSA 标准品用量 (ul)	BSA 标准品最终浓度 (ug/ul)
A	100	100	1
B	100	100 (从 A 管中取)	0.5
C	100	100 (从 B 管中取)	0.25
D	100	100 (从 C 管中取)	0.125
E	100	100 (从 D 管中取)	0.0625
F	100	100 (从 E 管中取)	0.03125
G	100	0	0 (空白)

2. 配制 BCA 工作液:

a. 计算 BCA 工作液总量:

BCA 工作液总量 = (BSA 标准品样本个数 + 未知样本个数) × 复孔数 × 每个样本 BCA 工作液体积。

b. 根据计算出的 BCA 工作液需要总量, 将 BCA-A Solution 和 BCA-B Solution 按照 50:1 的体积比, 配制 BCA 工作液, 充分混匀。

3. 定量检测:

- 1) 按上表, 将稀释好的 A-G BSA 标准品和待测蛋白样品各 25ul 分别加入到作好标记的 96 孔微板孔中, 推荐每个待测的样本做 2-3 个平行反应。(根据样品的浓度, 可提前稀释 5 倍或 10 倍)
- 2) 每孔加入 200ul BCA 工作液, 充分混匀, 盖上 96 孔板盖, 37 度孵育 30 分钟, 冷却至室温, 在 3-5 分钟内完成检测。
- 3) 使用分光光度计或酶标仪测定 562nm 处的每个样品及 BSA 标准品的吸光值, 同时做好记录。
- 4) 绘制标准曲线, 计算样品中的蛋白浓度。

● 保存条件

组分	规格	保存条件
BCA-A Solution	100ml	室温
BCA-B Solution	3ml	室温
BSA Standard Solution (2mg/ml)	2ml	-20°C

● 注意事项

1. 本产品可以采用分光光度计或酶标仪测定蛋白浓度
2. 建议每次测定蛋白样品时, 绘制标准曲线, 获得更准确数据
3. BSA 标准品稀释液需和待测样品的稀释液一致
4. BCA 法测定蛋白浓度时, 吸光值会随时间的延长不断加深, 并且显色反应会因浓度升高而加快, 如果浓度较低, 适合的较高温度孵育, 或适当延长孵育时间。
5. 建议去除背景值后的吸光度值读数绘制标准曲线, 由于操作误差导致标准品读数严重偏离线性曲线的应舍去。
6. 如果得到的蛋白浓度不在检测范围内, 请重新稀释样品后再次测定。