

即用型 **BCA** 快速蛋白定量试剂盒(0.02-10mg/mL)

产品编号: **MA1611** 规格: **100T / 500T / 2500T**

产品内容

产品组成	MA1611-1 100T	MA1611-2 500T	MA1611-3 2500T
试剂 A	20 mL	100 mL	500 mL
试剂 B	1 mL	5 mL	15 mL
蛋白标准品(BSA)	50 μ L $\times$ 8	1 mL $\times$ 8	1 mL $\times$ 2 $\times$ 8
说明书	1 份	1 份	1 份

产品简介

本产品是基于改良 **BCA** 法的蛋白质定量检测试剂盒，其检测原理是在碱性环境下蛋白质将显色工作液中的 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ ，随后 Cu^+ 与本品所含螯合剂以 2:1 的比例结合形成橙金色复合物（不同于传统 **BCA** 法的紫色产物），室温 5 min 即有较好显色效果，该产物在 480 nm 处具有最大吸光值。

本产品具有以下显著优势：（1）灵敏度高，检测范围广：本产品检测范围覆盖 20–10000 $\mu\text{g/mL}$ 的宽线性范围，在此范围内可实现精确测定，准确性高于 **Bradford** 检测法；（2）节约样本：本产品使用酶标仪检测仅需 10 μL 微量待测样本；（3）反应迅速：本产品采用优化螯合剂使显色速度较传统 **BCA** 法更快，5 分钟室温孵育即可进行检测；（4）操作便捷：本产品配套 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存的不同浓度蛋白标准品，免除反复冻融与繁琐的稀释步骤；（5）兼容性好：本产品与大多数盐、缓冲溶液、螯合剂及表面活性剂有较好兼容性。这些特性使其成为高效节约样本的蛋白质定量解决方案。

使用方法

（一）自备材料

分光光度计或酶标仪。

（二）显色工作液配制

1. 计算所需显色工作液总量

显色工作液总量 = (蛋白标准品样本个数 + 待测样本个数) $\times$ 复孔数 $\times$ 每个样本显色工作液体积

如：蛋白标准品样本个数为 8 个，待测样本个数 3 个，复孔数 3 个。使用酶标仪检测。

显色工作液总量 = (8 个蛋白标准品样本 + 3 个待测样本) $\times$ 3 个复孔 $\times$ 200 μL (每个样本显色工作液体积)
= 6.6 mL

2. 根据计算出的所需显色工作液用量，将试剂 A 和试剂 B 按照 50:1 的体积比，配制显色工作液，



充分混匀。（建议配制显色工作液时，多配制 1~2 个孔的量）

注：建议显色工作液现用现配，在室温下，工作液会逐渐变为深绿色，但只要在 1.5 h 内使用，对定量的准确性不会造成影响。

（三）检测方法

以酶标仪法为例

1. 分别取蛋白标准品(BSA)①~⑧各 10 μ L 加到 96 孔板中。

注：

组分名称	BCA 浓度
蛋白标准品(BSA)①	0 mg/mL
蛋白标准品(BSA)②	0.125 mg/mL
蛋白标准品(BSA)③	0.25 mg/mL
蛋白标准品(BSA)④	0.5 mg/mL
蛋白标准品(BSA)⑤	1 mg/mL
蛋白标准品(BSA)⑥	2 mg/mL
蛋白标准品(BSA)⑦	5 mg/mL
蛋白标准品(BSA)⑧	10 mg/mL

2. 加 10 μ L 待测样本到 96 孔板中（若样本蛋白浓度过高可预先使用 PBS 或生理盐水稀释）。

3. 各孔加入 200 μ L 显色工作液，充分混匀，盖上 96 孔板盖，室温孵育 5 min，上机检测，以获得标准曲线最佳线性拟合效果。

注：本产品检测结果是动态的，吸光值一直在增加，显色反应速度较快，须 15 min 内完成吸光值读取。若不得不在 15 min 后才能检测，或使用分光光度计检测的样本数量较多时，建议终止反应（孵育 5 min 后加入 50 μ L 1 M HCl），反应终止后应尽量在 60 min 内进行读数，此时吸光值读数变化较小，在此时间范围内读数误差较小。

4. 用酶标仪测定每个样品及蛋白标准品在 480 nm 处的吸光值 OD480（下同），并减去空白对照（标准品① + 显色工作液）的 OD480，得到校正的 OD480。

5. 绘制每个 BSA 标准品校正 OD480 与其浓度（以 mg/mL 为单位）的关系，绘制标准曲线，使用标准曲线确定每个未知样品的蛋白质浓度。

注：数据处理时需要去除明显错误的值。待测样本浓度若经稀释，计算浓度时需乘以样品的稀释倍数。

保存条件

2-8 $^{\circ}$ C 保存，自生产之日起 12 个月有效。



注意事项

1. 本产品可以采用酶标仪（微孔检测法）或者分光光度计（试管检测法）测定蛋白浓度，若使用分光光度计测定，请根据比色皿的最小检测体积提高显色工作液用量，待测样本和标准品的用量可酌情增加也可不变（例如，待测样本与显色工作液按 1:40 比例使用，将 25 μ L 待测样本或标准品加入比色皿中再加入 1 mL 显色工作液，室温孵育 5 min 上机读取吸光值）。使用分光光度计测定蛋白浓度时，本试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
2. 建议绘制标准曲线所用标准品与待测样本同步进行显色反应与吸光值测定，以获得准确测定值，建议每次测定蛋白样本时，都绘制标准曲线。
3. 由于本试剂盒显色反应速度较快，完成室温孵育 5 min 后，须在 15 min 内完成吸光值读取。若不得不在 15 min 后才能检测，或使用分光光度计检测的情况下样本数量较多时（ ≥ 15 个），建议终止反应（孵育 5 min 后加入 50 μ L 1 M HCl），反应终止后应尽量在 60 min 内进行读数，此时吸光值读数变化较小，在此时间范围内读数误差较小。
4. 若待测样本中含有浓度较高干扰物质（高于附表所述浓度），建议稀释或透析待测样本，若仍无法获得较准确测定结果请采用其它蛋白定量产品。
5. 若待测样本中含有较高浓度的铜螯合剂，建议稀释、脱盐或透析待测样本，也可提高显色工作液中试剂 B 的浓度（如，将原本的试剂 A 与 B 的比例 50:1 改为 50:2）。
6. 若待测样本中含有较高浓度的硫醇、生物胺等还原剂，建议稀释或透析待测样本，若仍无法获得较准确测定结果请采用其它蛋白定量产品，如本公司的 Bradford 法蛋白定量试剂盒（MA0079 或 MA0081）。
7. 若无法测定指定波长（480 nm）处吸光值，可以在 460-500 nm 之间的任何波长下测定，但标准曲线斜率和总体检测灵敏度将略有降低（ $<10\%$ ）。
8. 本产品仅限科研使用。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。



附表：本品对常见试剂的兼容性

试剂	耐受浓度	试剂	耐受浓度
盐/缓冲液		表面活性剂	
ACES, pH 7.8	25 mM	Brij™-35	5.0%
Bicine, pH 8.4	10 mM	Brij™-58	1.0%
Bis-Tris, pH 6.5	10 mM	CHAPS, CHAPSO	5.0%
CHES, pH 9.0	100 mM	SDS	5.0%
EPPS, pH 8.0	100 mM	Span™-20	1.0%
HEPES, pH 7.5	100 mM	Triton-X™-100	5.0%
MES, pH 6.1	100 mM	Triton-X™-114, Triton-X™-305, Triton-X™-405	5.0%
MOPS, pH 7.2	100 mM	Tween™-20, Tween™-60, Tween™-80	5.0%
PBS: Phosphate (0.1 M), NaCl (0.15 M), pH 7.2	无需稀释	Zwittergent™ 3-14	1.0%
DPBS, pH 7.4	无需稀释	脱氧胆酸钠 (Na Deoxycholate,DOC)	5.0%
PIPES, pH 6.8	100 mM	辛基β-葡萄糖苷	5.0%
RIPA lysis buffer: 50 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.5% DOC, 1% NP-40, 0.1% SDS, pH 8.0	无需稀释	螯合剂	
Tris	50 mM	EDTA	10 mM
TBS:Tris (25 mM), NaCl (0.15 M), pH 7.6	无需稀释	柠檬酸钠	100 mM
Tris-甘氨酸转膜缓冲液: Tris (25 mM), Glycine (192 mM), pH 8.0	以 ddH ₂ O 按 1:2 比例稀释	还原剂	
叠氮化钠	0.2%	N-乙酰葡萄糖胺-PBS 溶液, pH 7.2	10 mM
甘氨酸•HCl,pH 2.8	100 mM	葡萄糖	10 mM
磷酸钠	100 mM	2-巯基乙醇(2-ME)	不兼容
氯化钙-TBS 溶液, pH 7.2	10 mM	二硫苏糖醇 (Dithiothreitol,DTT)	不兼容
氯化钴-TBS 溶液, pH 7.2	0.8 mM	其他	
氯化钠	1 M	DMF, DMSO	10.0%
氯化镍-TBS 溶液, pH 7.2	10mM	DMSO	10.0%
氯化铁-TBS 溶液, pH 7.2	5 mM	丙酮	10.0%
咪唑,pH 7.0	5 mM	碘乙酰胺	1 M
柠檬酸钠, pH 4.8 or pH 6.4	100 mM	甘油	2.0%
硼酸-硼砂缓冲溶液, pH 8.5	50 mM	甲醇	25.0%
三醇碱,pH 8.0	25 mM	甲酸	0.5%
三乙醇胺,pH 7.8	25 mM	亮氨酸	10 mg/L
碳酸钠-碳酸氢钠缓冲溶液, pH 9.4	0.2 M	尿素	4 M
碳酸氢铵	50mM	三氟乙酸	0.5%
碳酸氢钠	100 mM	盐酸	100 mM
碳酸氢铯	100 mM	乙醇	10.0%
盐酸胍	4 M	乙腈	10.0%
乙酸钠, pH 4.8	200 mM	抑肽酶	10 mg/L

Y250501

大连美仑生物技术有限公司

官网: <https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱: 0411-62910999 sales@meilunbio.com

本产品仅供科研使用

