

BCA 蛋白浓度测定试剂盒 使用说明书

产品编号: SK1070

保存条件: BSA 蛋白标准液-20 °C保存, 其它组分室温保存, 有效期 12 个月。

包装内容: PBS 干粉 (PM5090) 按标签配液即为 PBS 稀释液

组分编号	产品组成	SK1070-250T	SK1070-500T	SK1070-2500T	SK1070-5000T
SK1070-1	A 液	50 mL	100 mL	125 mL× 4	125 mL× 8
SK1070-2	B 液	1.5 mL	3 mL	15 mL	30 mL
SK1070-3	PBS 稀释液	30 mL	30 mL	2L (干粉)	2L (干粉)
SL1060 (单独包装)	BSA 蛋白标准液 (5 mg/mL)	1 mL	1 mL	1 mL× 5	1 mL× 10
-	说明书	1 份			

产品简介:

BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (BCA Protein Assay Kit) 是根据最常用的 BCA 蛋白浓度检测法研制而成, 实现了蛋白浓度测定的简单化, 稳定性高, 灵敏度高和兼容性好。最小检测浓度达到 25 $\mu\text{g/mL}$, 最小检测蛋白量达到 0.5 μg , 样品体积为 1-20 μL 。在 50-2000 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内有较好的线性关系。BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响, 可以兼容样品中高达 5% 的 SDS, 5% 的 TritonX-100, 5% 的 Tween20、Tween60、Tween80。但受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响, 需确保 EDTA 低于 10 mM, 无 EGTA, 二硫苏糖醇低于 1 mM, β -巯基乙醇低于 0.01%。

使用说明:

1. 取适量 5 mg/mL 蛋白标准液, 用 PBS 稀释液稀释至 0.5 mg/mL, 该液可以-20 °C长期保存。
2. 根据样品数量, 取适量 A 液和 B 液按 50:1 体积比充分混匀, 配制适量 BCA 工作液。例如 5 mL A 液加 100 μL B 液, 混匀, 配制成 5.1mL 工作液。工作液室温 24 小时内稳定。

加样顺序	标样编号								样品编号	
标记编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
BSA 蛋白标样	0	1 μ L	2 μ L	4 μ L	8 μ L	12 μ L	16 μ L	20 μ L	20 μ L	...
PBS 稀释液	20 μ L	19 μ L	18 μ L	16 μ L	12 μ L	8 μ L	4 μ L	0	样品	
BCA 工作液	200 μ L									

注：BSA 标样浓度 (μ g/mL) 分别为：0、25、50、100、200、300、400、500。

3. 将 BSA 蛋白标样，以及适当稀释的蛋白样品，按上表顺序加入 96 孔板中，标样需用 PBS 稀释液补足到 20 μ L。每孔加入 BCA 工作液 200 μ L，37 $^{\circ}$ C 放置 30 min。

4. 测定 A562 波长光度值，或选择 540-595 nm 之间波长。绘制标准曲线并计算蛋白浓度。

注意事项：

1. 样品加入 BCA 工作液后，也可以室温放置 2 小时，或 60 $^{\circ}$ C 放置 30 分钟；可以适当用微波炉加热来加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度，但切勿过热。
2. BCA 法测定蛋白浓度时，颜色会随着时间的延长不断加深，且显色反应会因温度升高而加快。如果蛋白浓度较低，适合在较高温度孵育，或适当延长孵育时间。
3. 可以使用普通的分光光度计测定，根据比色皿的最小检测体积，按比例放大蛋白样品、标样和 BCA 工作液的用量，单个试剂盒测定的样品数量会显著减少。
4. 如样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，请选择本公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。
5. 本试剂盒要求蛋白样品的 EDTA 浓度必需小于 10 mM，且不兼容 EGTA。

Bradford 与 BCA 蛋白定量试剂盒对样品中化学成分的耐受范围：

名称	BCA (SK1070)	Bradford (SK1060)
Ammonium Sulfate	1.5 M	1.0 M
Brij-35	5.00%	0.12%
CHAPS	5.00%	5.00%
EDTA	10 mM	100 mM
EGTA	0	50 mM

Hepes	100 mM	100 mM
Glycine (pH2.8)	100 mM	100 mM
Guanidine HCl	4.0 M	3.5 M
Tween 20、 Tween 60、 Tween 80	5.00%	0.06%
SDS	5.00%	0.10%
Sodium Acetate (pH5.5)	200 mM	180 mM
Sodium Chloride (NaCl)	1.0 M	5.0 M
Sucrose	40%	10%
Sodium Hydroxide (NaOH)	0.1 M	0.1M
NP-40	5.00%	0.50%
Triton X-100	5.00%	0.10%
Urea	3.0 M	3.0 M
DTT	1 mM	5 mM
β -mercaptoethanol	1 mM	1 M