

BCA 蛋白定量试剂盒

产品简介:

目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法是: BCA 法和 Bradford 法。

BCA 法测蛋白的原理是在碱性环境下蛋白质与 Cu^{2+} 络合并将 Cu^{2+} 还原成 Cu^{1+} 。BCA 与 Cu^{1+} 结合形成稳定的紫蓝色复合物,在 562 nm 处有最大的光吸收值并与蛋白质浓度成正比,据此可测定蛋白质浓度。BCA 法与传统方法相比,操作更简单、试剂及其形成的颜色复合物更稳定、灵敏度更高。BCA 法测定蛋白浓度兼容性亦很好,不受大部分样本中其他成分的影响,对于 5% 以内的去垢剂如 SDS、Triton X-100、Tween 20、Tween80、NP-40 具有很好的兼容性,但易受螯合剂、还原剂等的影响,在测定蛋白浓度前应尽量使样本满足如下要求: EDTA 浓度 $\leq 10\text{mM}$ 、DTT 浓度 $\leq 1\text{mM}$ 、2-ME $\leq 0.01\%$ 、无 EGTA。

Leagene BCA Protein Assay Kit 在 50 ~ 2000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内有较好的线性关系。本试剂盒适用于微量蛋白质浓度的测定,其最小检出量为 25 $\mu\text{g/ml}$ 。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	PT0001 250T	PT0001 500T	PT0001 2500T	Storage
试剂(A): BCA 试剂 A	50ml	100ml	500ml	RT
试剂(B): BCA 试剂 B	1.5ml	3ml	15ml	RT
试剂(C): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	RT
试剂(D): 蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	RT
使用说明书	1 份			

自备材料:

- 1、蒸馏水、生理盐水或 PBS
- 2、酶标仪或分光光度计、EP 管、96 孔板或比色皿、恒温箱或水浴锅

操作步骤(仅供参考):

- 1、取 1ml 蛋白标准配制液加入到含有 20mg 的蛋白标准(BSA)中,充分溶解后配制成为 20mg/ml 的蛋白标准溶液,配制后可立即使用,配制的蛋白标准溶液应 -20°C 保存。
- 2、取适量的 20mg/ml 蛋白标准溶液,稀释至终浓度为 500 $\mu\text{g/ml}$,如取 25 μl 蛋白标准 (20mg/ml),加入 975 μl 稀释液,充分混匀即配制成为 500 $\mu\text{g/ml}$ 蛋白标准溶液。注意: 待测蛋白溶解于什么样的稀释液中,蛋白标准也宜溶解于同样的溶液中,一般可用 0.9%NaCl 或 PBS 作为 BSA 的稀释液,稀释后的 500 $\mu\text{g/ml}$ 蛋白标准溶液也应 -20°C 长

期保存。

- 3、根据样品数量,按试剂(A):试剂(B)=50:1 的比例配制 BCA 工作液,即取 50 份 BCA 试剂 A 和 1 份 BCA 试剂 B,充分混匀,即获得 BCA 工作液(注意:正常 BCA 工作液应为苹果绿或墨绿色,如变为紫色或其他颜色应弃用);例如取 5ml BCA 试剂 A 和 0.1ml BCA 试剂 B,配制成 5.1ml BCA 工作液,BCA 工作液室温 24 小时内稳定。
- 4、将 500 μ g/ml 蛋白标准溶液按 0、1、2、4、8、12、16、20 μ l 加到 96 孔板或 EP 管中,加稀释液补足至 20 μ l,其蛋白标准浓度依次为 0、25、50、100、200、300、400、500 μ g/ml。
- 5、加 20 μ l 待测蛋白到 96 孔板或 EP 管中,如果样本不足 20 μ l,用稀释液补足至 20 μ l。注意:如果标准品稀释液与溶解待测蛋白的溶液不同,应在待测蛋白中加入 20 μ l 稀释液;如果标准品稀释液与溶解待测蛋白的溶液相同,无需在待测蛋白孔中加入 20 μ l 稀释液,以减少不同溶液的差异。
- 6、向各孔或 EP 管加入 200 μ l 配制好的 BCA 工作液,迅速混匀,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 ~ 60min。
- 7、冷却至室温,立即用酶标仪或分光光度计测定 562nm 波长处吸光度(如无 562nm,540 ~ 595nm 之间的波长也可),各孔或 EP 管吸光度减去蛋白浓度为 0 μ g/ml 的标准管的吸光度,以求得的差值为纵坐标:以标准孔或 EP 管中蛋白浓度(μ g/ml)为横坐标,得出标准曲线及回归方程,根据标准曲线计算出待测样品的蛋白浓度。

注意事项:

- 1、蛋白标准(BSA)粉末溶解于蛋白标准配制液后,即获得蛋白标准原液(即 20mg/ml 的蛋白标准),该原液中含有防腐剂,不影响后续检测,该蛋白标准原液-20 $^{\circ}$ C 长期保存。
- 2、待测蛋白溶解于什么样的稀释液中,蛋白标准也宜溶解于同样的溶液中,否则待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致,有可能导致测定不准确。
- 3、如果检测效果不佳,可以室温放置 2h 或 60 $^{\circ}$ C 放置 30min,颜色会随着时间的延长不断加深,显色反应也会随温度升高而加快;如果浓度较低,可以适当延长孵育时间或在较高温度下孵育。
- 4、测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加,吸光度或颜色没有明显变化,可能的原因是样品中含有严重干扰 BCA 法测定蛋白浓度的物质。
- 5、如检测样本中含有较多螯合剂、还原剂等影响因素时可考虑 Bradford 法测定。
- 6、因 BCA 法测定时颜色会随着时间的延长不断加深,建议每次测定时都作标准曲线,且显色反应的速度和温度有关,所以除非精确控制显色反应的时间和温度,否则每次都做标准曲线。
- 7、如果没有酶标仪也可以用普通的分光光度计测定,但应考虑比色皿的最小测定体积,按比例适当加大 BCA 工作液的用量使总体积不小于最小检测体积,样品和标准品的用量亦相应按比例放大;使用分光光度计测定蛋白浓度时,可以测定的样品数量会显著减少。
- 8、为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当加热,但切勿过热,否则易失效。

9、试剂开封后请尽快使用,以防影响后续实验效果。

10、为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当用微波炉加热,但是切勿过热。室温保存。

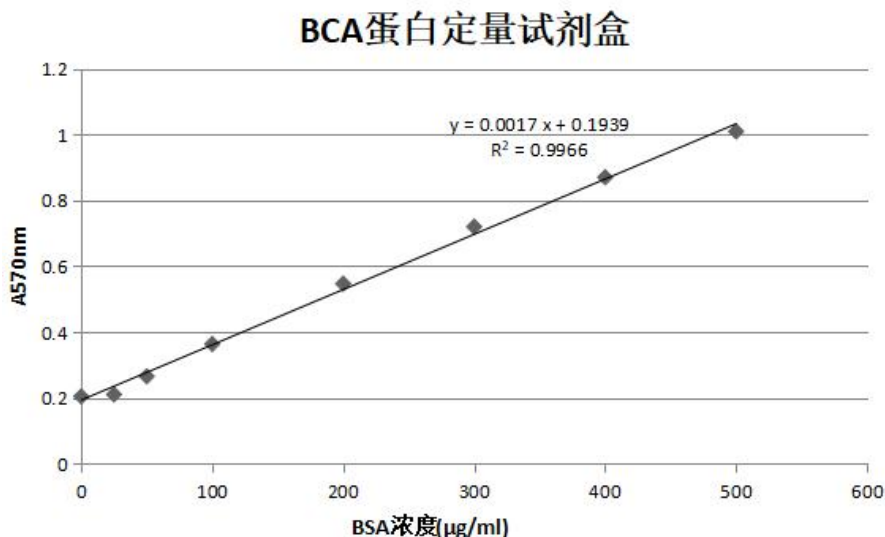
蛋白标准配制成溶液后-20℃冻存。

有效期: 12 个月有效。

附录 1: 标准曲线制作: Leagene 在室温条件下按说明书操作,对系列标准用酶标仪测定 570nm 时的吸光度,其数值及标准曲线如下(仅供参考):

蛋白标准(μg/ml)	0	25	50	100	200	300	400	500
吸光度	0.205	0.211	0.266	0.364	0.547	0.72	0.87	1.009

注意: 对于 10~50μg/ml 范围内的蛋白样品,要充分考虑如 EDTA、2-ME、DTT 等干扰因素,其检测结果波动较大,标准品亦有波动,请注意小心精细操作,Leagene 建议采购微量 BCA 蛋白定量试剂盒 PT0006。



相关产品:

产品编号	产品名称
PS0009	Western 及 IP 细胞裂解液
PS0013	RIPA 裂解液(强)
PT0002	Bradford 蛋白定量试剂盒
PT0006	微量 BCA 蛋白定量试剂盒
PT0008	改良 Lowry 法蛋白定量试剂盒
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
PW0072	DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒
TC0545	总蛋白检测试剂盒(双缩脲微板法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

文件引用:

- 1、Hu Ke,Yu Tingting,Tang Shijia,et al.Dual anisotropy comprising 3D printed structures and magnetic nanoparticle assemblies: towards the promotion of mesenchymal stem cell osteogenic differentiation.NPG Asia Materials.March 2021.10.1038/s41427-021-00288-x.(IF 10.481)
- 2、Lv Fu,He Yingxin,Xu Hongde,et al.CD36 aggravates podocyte injury by activating NLRP3 inflammasome and inhibiting autophagy in lupus nephritis.Cell Death & Disease.August 2022.10.1038/s41419-022-05179-9.(IF 9.685)
- 3、Sun Ye,Liu Wenjun,Zhao Qiuyu,et al.Down-Regulating the Expression of miRNA-21 Inhibits the Glucose Metabolism of A549/DDP Cells and Promotes Cell Death Through the PI3K/AKT/mTOR/HIF-1 α Pathway.Frontiers in Oncology.May 2021.10.3389/fonc.2021.653596.(IF 6.244)
- 4、Haoran Wang,Ran Suo,Yangyang Wang,et al.Effects of electron beam irradiation on protein oxidation and textural properties of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during refrigerated storage.Food Chemistry-X.November 2023.10.1016/j.fochx.2023.101009.(IF 6.1)
- 5、Tang Shijia,Wang Lin,Zhang Yunyang,et al.A Biomimetic Platelet-Rich Plasma-Based Interpenetrating Network Printable Hydrogel for Bone Regeneration.Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.April 2022.10.3389/fbioe.2022.887454.(IF 6.064)
- 6、Xingbo Liu,Ran Suo,Haoran Wang,et al.Differential proteomic analysis using a tandem-mass-tag-based strategy to identify proteins associated with the quality indicators of *Penaeus vannamei* after high-pressure treatment.LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY.September 2022.10.1016/j.lwt.2022.113960.(IF 6.056)
- 7、Yongmei Yu,Meican Ma,Chunyan Li,et al.Irisin mitigates rheumatoid arthritis by suppressing mitochondrial fission via inhibiting YAP-Drp1 signaling pathway.INTERNATIONAL IMMUNOPHARMACOLOGY.December 2023.10.1016/j.intimp.2023.111443.(IF 5.6)
- 8、Lingling Cui,Huijun Zhou,Yudan Hao,et al.Effect of ferric citrate on hippocampal iron accumulation and widespread molecular alterations associated with cognitive disorder in an ovariectomized mice model.CNS Neuroscience & Therapeutics.September 2024.10.1111/cns.70018.(IF 4.8)
- 9、Fan Chunxue,Liang Weishi,Wei Min,et al.Effects of D-Chiro-Inositol on Glucose Metabolism in db/db Mice and the Associated Underlying Mechanisms.Frontiers in Pharmacology.March 2020.10.3389/fphar.2020.00354.(IF 4.225)
- 10、Xing Chen,Chaoyue Pang,Xueqiao Liu,et al.Investigation of the antibacterial activity of benzothiazolinone against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.PESTICIDE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY.January 2024.10.1016/j.pestbp.2024.105768.(IF 4.2)
- 11、Jiazhong Lin,Yanfeng Huang,Xiang Lin,et al.*Bauhinia championii* alleviates extracellular matrix degradation in IL-1 β induced chondrocytes via miRNA-145-5p/TLR4/NF- κ B axis..Heliyon.August 2023.10.1016/j.heliyon.2023.e19138.(IF 4)
- 12、Yufei Wu,Chuan Sun,et al.Salidroside prevents cadmium chloride-induced DNA damage in human fetal lung fibroblasts.JOURNAL OF TRACE ELEMENTS IN MEDICINE AND BIOLOGY.September 2024.10.1016/j.jtemb.2024.127521.(IF 3.6)
- 13、Saqier,Shuyin Bao,Shuying Han,et al.Effects of *Agriophyllum squarrosum* extracts on glucose metabolism in KKAY mice and the associated underlying mechanisms.JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY.May 2019.10.1016/j.jep.2019.112009.(IF 3.414)
- 14、Zhenhua Wu,Yunpeng Bai,Yujuan Qi,et al.lncRNA NEAT1 Downregulation Ameliorates the Myocardial Infarction of Mice by Regulating the miR-582-5p/F2RL2 Axis.Cardiovascular Therapeutics.December 2022.10.1155/2022/4481360.(IF 3.368)
- 15、Lai Yafang,Wang Xiaofei,Ma Jingrong,et al.Knockdown of EIF2AK2-OAS1 axis reduces ATP production inducing AMPK phosphorylation to inhibit the malignant behavior of gastric cancer cells.JOURNAL OF BIOENERGETICS AND BIOMEMBRANES.June 2024.10.1007/s10863-024-10023-0.(IF 2.9)
- 16、Guangyu Sun,Yanmin Song,Congxian Li,et al.MTCH2 promotes the malignant progression of ovarian cancer through the upregulation of AIMP2 expression levels,mitochondrial dysfunction and by mediating energy metabolism. Oncology Letters.August 2024.10.3892/ol.2024.14625.(IF 2.5)
- 17、Jiang Chang,Qingzhuang Yang,Xiangwei Liu,et al.Dihydroartemisinin inhibits ATP6 activity, reduces energy metabolism of hepatocellular carcinoma cells, promotes apoptosis and inhibits metastasis via CANX.Oncology Letters.August 2024.10.3892/ol.2024.14607.(IF 2.5)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页