

## Rapid BCA Protein Quantification Kit

### 快速 BCA 蛋白浓度测定试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1673A	快速BCA蛋白浓度测定试剂盒	100ml

#### 产品简介:

快速蛋白定量试剂盒的原理与传统 BCA 蛋白定量法类似,但采用了一种不同于 BCA 的全新特殊的螯合剂,从而实现对蛋白质浓度进行快速、稳定、灵敏的测定。其原理是在碱性环境下蛋白质分子中的肽键能与  $\text{Cu}^{2+}$  形成络合物,将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^+$  与螯合物结合,从而发生颜色反应。本试剂盒中的螯合剂可敏感特异地与  $\text{Cu}^+$  结合,只需室温孵育 5min 即可形成稳定的橙黄色水溶性复合物,而传统 BCA 法则需在  $37^\circ\text{C}$  下孵育 30min 才可完成颜色反应。该橙黄色的复合物在 480nm 处有强光吸收值,颜色的深浅与蛋白质浓度成正比,可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量。

本试剂盒含有一系列浓度的蛋白质标准品溶液 (BSA 溶液),即取即用,无需稀释,方便快捷。

#### 产品特点:

简单快速-室温 5min 完成显色反应。

方便快捷-提供 BSA 即用型蛋白标准品,省去稀释步骤。

线性范围广-灵敏,检测 20-2000 $\mu\text{g/ml}$  浓度范围内有较好的线。

兼容性好-不受大部分样品中的化学物质的影响。

#### 产品组分:

产品编号	产品名称	规格	保存温度
BL1673A-1	试剂 A	100ml	$4^\circ\text{C}$
BL1673A-2	试剂 B	3ml	$4^\circ\text{C}$
BL1673A-3	BSA 标准品 1 (0 $\mu\text{g/ml}$ )	1ml	$-20^\circ\text{C}$
BL1673A-4	BSA 标准品 2 (125 $\mu\text{g/ml}$ )	1ml	$-20^\circ\text{C}$
BL1673A-5	BSA 标准品 3 (250 $\mu\text{g/ml}$ )	1ml	$-20^\circ\text{C}$
BL1673A-6	BSA 标准品 4 (500 $\mu\text{g/ml}$ )	1ml	$-20^\circ\text{C}$
BL1673A-7	BSA 标准品 5 (750 $\mu\text{g/ml}$ )	1ml	$-20^\circ\text{C}$
BL1673A-8	BSA 标准品 6 (1000 $\mu\text{g/ml}$ )	1ml	$-20^\circ\text{C}$
BL1673A-9	BSA 标准品 7 (1500 $\mu\text{g/ml}$ )	1ml	$-20^\circ\text{C}$
BL1673A-10	BSA 标准品 8 (2000 $\mu\text{g/ml}$ )	1ml	$-20^\circ\text{C}$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



## 使用方法:

### 一、配制显色工作液

#### 1、计算显色工作液总量

工作液总量= (BSA 标准品样本个数+待测样本个数) × 复孔数 × 每个样本显色工作液体积

举例: BSA 标准品样本个数为 8 个, 待测样本个数 3 个, 复孔数 3 个。

显色工作液总量= (8 个 BSA 标准品样本+3 个待测样本) × 3 个复孔 × 200 $\mu$ L (每个样本工作液体积)  
=6.6mL

2、根据计算出的显色工作液需要总量, 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。

- 注意:** (1) 试剂 B 刚加入试剂 A 时, 会出现灰蓝色沉淀, 但只需混匀几秒钟, 沉淀就会消失, 形成透亮的绿色溶液;  
(2) 建议工作液现用现配, 在室温下, 工作液会逐渐变为深绿色, 但只要在 1.5h 内使用, 对定量的准确性不会造成影响;  
(3) 由于加样可能存在误差, 建议配制 BCA 工作液时, 多配制 1~2 个孔。

### 二、定量检测

1、分别取即用型 BSA 标准品 1~8 各 20 $\mu$ L 加到 96 孔板中 (BSA 标准品使用前须充分溶解摇匀)。

2、用 1×PBS 或 0.9%生理盐水将样品适当稀释 (可以多作几个梯度, 如 2 倍、4 倍、8 倍稀释), 加 20 $\mu$ L 到 96 孔板的样品孔中。

3、各孔加入 200 $\mu$ L 显色工作液, 充分混匀, 盖上 96 孔板盖, 室温孵育 5min, 即可进行检测。

**注意:** 由于颜色反应速度较快, 须保证在 20~30min 之内完成读值。如果必须在 30min 后读值, 可提前加入 50 $\mu$ L 1M HCl 终止反应。

4、用酶标仪测定每个样品及 BSA 标准品的 A480, 注意要减去空白对照 (标准品 1+工作液) 的 A480。

5、绘制标准曲线, 计算样品中的蛋白浓度。

**注意:** 数据处理时需要去除明显错误的值。待测样品浓度可以从标准曲线中查得, 实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。如果是计算机绘制的曲线, 可以从计算机给出的线性方程式计算出待测样品的浓度。

### 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, 如使用普通的分光光度计测定, 需根据比色皿的最小检测体积, 适当加大 BCA 工作液的用量使不小于最小检测体积, 样品和标准品的用量可相应按比例放大也可不变。使用分光光度计测定蛋白浓度时, 每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。

2、完成室温孵育 5min 后, 须在 20~30 min 内完成检测, 否则会影响蛋白定量的准确度。

3、实验操作规范, 提高上样量的精确度。

4、每次测定都需做相应的标准曲线, 因为显色反应与温度和时间的变化有关, 精准蛋白定量宜每次都做标准曲线。

5、如待测样品中含较多的干扰物质, 可采用其它蛋白定量产品。

6、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**保存条件:**

-20°C保存，一年有效。

**附表:**

附表 1 蛋白浓度测定的兼容性

化合物 Compound	Compatible Concentration	化合物 Compound	Compatible Concentration
Salts/Buffers		Detergents	
ACES, pH 7.8	25mM	Brij-35	5.0%
Bicine, pH 8.4	20mM	Brij-58	1.0%
Borate	50mM	Na Deoxycholate(DOC)	5.0%
Calcium chloride in TBS, pH 7.2/ Nickel chloride in TBS, pH 7.2	10mM	Octyl $\beta$ -glucoside	5.0%
Na-Carbonate/Na-Bicarbonate, pH 9.4	0.1M	Span-20	0.5%
Cesium bicarbonate/ Sodium bicarbonate/ Sodium phosphate	100mM	Triton- X-100	5.0%
CHES, pH 9.0/ EPPS, pH 8.0	100mM	Triton-X-114, Triton-X-305, Triton-X-405	1.0%
Na-Citrate	75mM	Tween-20, Tween-60, Tween-80	5.0%
MOPS, pH 7.2	100mM	CHAPS	5.0%
Cobalt chloride in TBS, pH 7.2	0.8mM	CHAPSO	5.0%
Tris	250mM	Zwittergent 3-14	1.0%
Ferric chloride in TBS, pH 7.2	10mM	Chelating Agents	
Glycine•HCl, pH 2.8	100mM	EDTA	10mM
Ammonium sulfate	Ø	Sodium citrate	200mM
Guanidine•HCl	4M	Reducing and Thiol-containing Agents	
HEPES, pH 7.5	100mM	2-mercaptoethanol	Ø
Imidazole, pH 7.0	12.5mM	Dithiothreitol (DTT)	Ø
MES, pH 6.1 / PIPES, pH 6.8	100mM	N-acetylglucosamine in PBS, pH 7.2	10mM
MES (0.1M), NaCl (0.9%), pH 4.7	Undiluted	Glucose	
Tris (25 mM), Glycine (192 mM), pH 8.0	1:2 dilution	Glucose	10mM
PBS; Phosphate (0.1 M), NaCl (0.15 M), pH 7.2; TBS: Tris (25 mM), NaCl (0.15 M), pH 7.6	Undiluted	Misc. Reagents and Solvents	
RIPA lysis buffer: 50 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.5% DOC,	Undiluted	Acetone or MeCN	10%

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



1% NP-40, 0.1% SDS, pH 8.0		Aprotinin	10mg/L
Sodium acetate, pH 4.8	200 mM	Ethanol/ DMF / DMSO	10%
Sodium azide	0.2%	Glycerol (fresh)	10%
Tricine, pH 8.0/ Triethanolamine, pH 7.8	25mM	Hydrochloric acid	100mM
Sodium chloride	1 M	Leupeptin	10mg/L
Sodium citrate, pH 4.8 or pH 6.4	200mM	Methanol	10%

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

