

Protein Content Assay Kit (BCA Method)

蛋白(含量测定试剂盒(BCA 法) 分光法

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|---------|-----------------------|-----|
| BL1784A | 蛋白(含量测定试剂盒(BCA 法) 分光法 | 48T |

产品简介:

BCA 蛋白含量试剂盒提供一种简单, 快速, 耐去污剂 (最多 5%) 的检测蛋白质浓度的方法。由于蛋白质能将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ ; BCA 可与 Cu^+ 结合生成紫蓝色复合物, 在 562nm 处有最大光吸光值, 颜色的深浅与蛋白含量成正比, 因此可根据吸光值测定蛋白质浓度。

产品组成:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|-----------|-------|-------------------------------------|
| 试剂 A | 50mL×1 瓶 | 4°C保存 | 依据实验用量, 临用前试剂 A:B=50:1 的比例混匀成反应 mix |
| 试剂 B | 1mL×1 支 | 4°C保存 | |
| 标准品 | 1.5mL×1 支 | 4°C保存 | 若重新做标曲, 则用到该试剂 |

使用方法:

一、样本准备

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1. 组织样本:

(a) 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 (提取液可选用酶提取缓冲液、蒸馏水、生理盐水) 冰浴匀浆;

(b) 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 即待测液。

【注】: 依据研究经验, 一般需将样本粗提液稀释到适当倍数再进行测定, 如 10 倍。实验前可以先选 2 个样本测定, 摸索确定适合本次实验的稀释倍数。

2. 细胞/细菌样本:

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;

(b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);

(c) 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 即待测液。

【注】: 依据研究经验, 一般需将样本粗提液稀释到适当倍数再进行测定, 如 10 倍。实验前可以先选 2 个样本测定, 摸索确定适合本次实验的稀释倍数。

3. 液体样本:

澄清无色液体样品可以直接测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 分光光度计预热 30 min 以上, 设定波长为 562 nm, 蒸馏水调零。

2. 反应 mix 置于 60°C水浴预热 30 min (仅煮一次即可)。

3. 在离心管中依次加入:

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 空白管 (只做一次) |
|-----------|-----|------------|
| 样本 | 20 | - |
| 蒸馏水 | - | 20 |
| 反应 mix | 800 | 800 |

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。

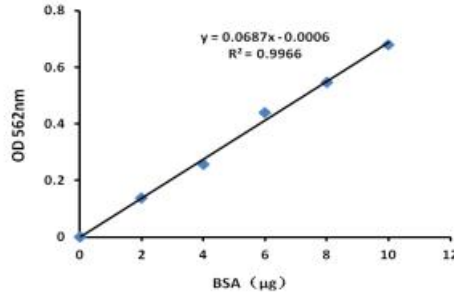


混匀，于 60°C 保温 30min，全部转移到 1mL 玻璃比色皿中，于 562nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

【注】若 $\Delta A > 1.5$ ，需将样本用提取液稀释后再测定。

三、结果计算

1. 标准曲线方程： $y = 0.0687x - 0.0006$ ；x 是标准品质量： μg ，y 是 ΔA 。



2. $\text{Cpr (mg/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0687 \times 10^{-3}] \div (V1 \div V \times W) \times D = 0.728 \times (\Delta A + 0.0006) \div W \times D$

3. $\text{Cpr (mg/mL)} = [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0687 \times 10^{-3}] \div V1 \times D = 0.728 \times (\Delta A + 0.0006) \times D$

4. $\text{Cpr } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0687] \div (V1 \div V \times 500) \times D = 1.46 \times (\Delta A + 0.0006) \times D$

V---提取液体积：1mL

D---稀释倍数，未稀释即为 1

V1---加入粗提液体积：0.02mL

W---样本质量：g

500---细菌或细胞总数，万

附：标准曲线制作过程：

1. 标准品母液（500 $\mu\text{g/mL}$ ）。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0，100，200，300，400，500. $\mu\text{g/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 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。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C 保存六个月。

