

天
净
沙
系
列

CAT#:80816-500

常温运输和保存, BSA 需低温运输

TIANDZ

超敏型 BCA 法蛋白定量试剂盒

Ultrasensitive BCA Protein Assay Kit

使用手册 V1.3

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品是在 BCA 法蛋白定量试剂盒 (CAT#:80815-500) 基础上改进的超敏蛋白定量试剂盒, 尤其适合对低浓度的蛋白质溶液进行定量分析。它具有下列特点。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 超敏感, 最低检测浓度为 0.5μg/mL。 2. 线性范围在 0.5~20μg/mL, 尤其适用于低浓度的样品。 3. 对大多数离子型和非离子型去污剂不敏感, 但对 Cu 的还原剂和螯合剂敏感。 4. 比 Lowry 法更加简单快捷, 45 分钟内完成测定。 5. 试剂稳定, 但工作液 1 天内有效。 6. 终产物稳定, 检测不同蛋白质分子的变异系数远小于考马斯亮蓝法蛋白定量。 7. 最短可以检测双肽, 所以适合于分子量较小的蛋白质, 而 Bradford 法需要一定大小的蛋白质。 																				
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="488 745 1412 1131"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>小扁盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 A</td> <td>80816a</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 B</td> <td>80816b</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 C</td> <td>80816c</td> <td>2 mL (棕色管)</td> </tr> <tr> <td>BSA 标准品 (2 mg/mL)</td> <td>131070</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>80816sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成份	编号	小扁盒包装	超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 A	80816a	50 mL	超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 B	80816b	50 mL	超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 C	80816c	2 mL (棕色管)	BSA 标准品 (2 mg/mL)	131070	1 mL	使用手册	80816sc	1 份
成份	编号	小扁盒包装																			
超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 A	80816a	50 mL																			
超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 B	80816b	50 mL																			
超敏型 BCA 蛋白定量试剂盒溶液 C	80816c	2 mL (棕色管)																			
BSA 标准品 (2 mg/mL)	131070	1 mL																			
使用手册	80816sc	1 份																			
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存, 但 BSA 标准品需要低温运输, -20$^{\circ}$C 保存, 有效期一年。</p>																				
<p>自备试剂</p>	<p>样品缓冲液</p>																				
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 用合适的方法制备待测蛋白样品, 并把蛋白质溶解在合适的样品缓冲液中。本检测方法受待测样品中螯合剂和还原剂的影响, 所以需确保蛋白溶液中, EDTA 的终浓度不高于 10mM、二硫苏糖醇不高于 1mM、β-巯基乙醇不高于 1mM, 没有任何 EGTA。如果达不达上述要求, 则需要稀释样品, 使其浓度降低到上述浓度之下。 2. 将本试剂盒提供的 BSA 标准品 (2 mg/mL) 10μL 和 490μL 自备的样品缓冲液 (用于溶解待测样品的溶液) 混合, 得到 500μL 浓度为 0.04μg/μL 的 BSA 工作液, 放冰上待用, 用于制备标准曲线, 足够一次实验使用。此工作液每次实验均需要新鲜配制。 3. 配制超敏 BCA 工作液: 先计算一次检测所需 BSA 工作液的体积。如果有 N 个样品, 每个样品只做一次重复, 再加上 7 个标准曲线样品, 则一次检测所需 BSA 工作液的体积为: $0.15\text{mL} \times (N+7)$。一般多准备 10% 的量。配制时将溶液 A、溶液 B 和溶液 C 按 50: 48: 2 的比例混合到所需体积即可。如果需要 9mL, 则按 10mL 准备, 则将 5 mL 溶液 A、4.8 mL 溶液 B、0.2mL 																				

溶液 C 混合即可，所得溶液即超敏 BCA 工作液。

4. 取一块 96 孔板，按下表加入上步新鲜制备的 BSA 工作液、待测蛋白样品和自备样品缓冲液：

编号	BSA 工作液 (μL)	待测样品 (μL)	样品缓冲液 (μL)	总体积 (μL)	蛋白含量 (μg)
0	0	0	150	150	0
1	5	0	145	150	0.2
2	10	0	140	150	0.4
3	20	0	130	150	0.8
4	40	0	110	150	1.6
5	60	0	90	150	2.4
6	80	0	70	150	3.2
7	100	0	50	150	4.0
N 个待测样品	0	? μL	补到 150	150	待测

5. 在每个孔中加入 1 倍体积（即 150 μL）的超敏 BCA 工作液并混匀。如果用排枪加入并混匀则更好。也可把 96 孔板放在振荡器上振荡 30 秒混匀。
6. 60℃放置 1 小时。
7. 冷至室温，迅速在 562 nm 下比色测定其余样品的光吸收。如酶标仪没有 562 nm 的设定，可用接近的波长检测，如 570nm。测定操作最好在 10 分钟内完成，否则化学反应还在继续进行，光吸收值每 10 分钟会升高 2.5%左右。
8. 处理数据：将编号为 0 号的样品（对照）的读数从其余所有样品（包括 0 号样品，其读数变成零）中扣除。
9. 制作标准曲线：以 0-7 号样品的 BSA 含量（单位 μg，见上表最右行）为横坐标，以上一步得到的样品吸光值（扣除背景读数的）为纵坐标，绘出 BSA 的标准曲线。
10. 再将 N 个待测样品的吸光值（减去 0 号样品的读数后）标在标准曲线上，其在横坐标上对应的蛋白含量（μg）就是待测样品中的蛋白质含量，除以样品稀释液总体积（20μL），乘以样品稀释倍数即为样品实际浓度（单位：μg/μL）。

二：注意事项

11. 加工作液后也可以在室温放置 2 小时，或 60℃放置 30 分钟。超敏 BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度会随着时间的延长不断加深。并且显色反应会因温度升高而加快。所以，如果蛋白质浓度较低，可以改在 60℃孵育 60 分钟。

12. 待测样品浓度在 20~2000 $\mu\text{g/mL}$ 范围时有较好的线性关系。

13. 超敏 BCA 法测定蛋白浓度时，不受下列化学物质的影响：

名称	浓度小于下面数值时不受影响
Ammonium Sulfate	1.5 M
Brij-35	5.0%
CHAPS	5.0%
EDTA	10 mM
Hepes	100 mM
Glycine, pH 2.8	100 mM
Guanidine HCl	4.0 M
Tween 20、60、80	5.0%
SDS	5.0%
Sodium Acetate pH 5.5	200 mM
Sodium Chloride (NaCl)	1.0 M
Sucrose	40%
Sodium Hydroxide (NaOH)	0.1 M
NP-40	5.0%
Triton X-100	5.0%
Urea	3.0 M

本试剂受温度和时间影响较大，故需要准确定时和定温，以保证精确定量。

相关产品

BCA 法蛋白定量试剂盒 (CAT#: 80815)