YoungGen

BCA Protein Assay Kit

CP601

产品概述 Product Overview

本 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（BCA Protein Assay Kit）基于应用最广泛的两大经典蛋白浓度检测方法之一的 BCA 法开发，具备操作简便、稳定性强、灵敏度高、兼容性广等特点。BCA 法测定蛋白浓度不受样品中绝大部分的化学物质影响，最高耐受 5% SDS、5% Triton X-100，以及 5% 浓度的 Tween 20、Tween 60 与 Tween 80。检测原理基于双缩脲反应：在碱性环境下，蛋白质肽键将 Cu^{2+} 还原为 Cu^{+}，新生 Cu^{+}随即与螯合剂结合，产生特征性颜色反应。试剂盒灵敏度高，检测浓度下限达到 25μg/mL，最小检测蛋白量达到 0.5μg，在 50-2000μg/mL 浓度范围内有较好的线性关系。

产品组成 Product Composition

组分	CP 601 500 rxns
Reagent A	100 mL
Reagent B	3 mL
BSA standard	3 mL (10 mg/mL)

注意事项 Precautions

1. 本产品支持酶标仪微孔法与分光光度计比色皿法检测蛋白浓度。酶标仪微孔法测定需要 96 孔板，波长在 540-595 nm 之间，562 nm 最佳。采用分光光度计时，需依据比色皿最小检测体积调整 Working Buffer 用量（确保不低于其最小体积），样品及标准品用量需按同比例放大，受此影响，使用分光光度计检测时，单个试剂盒可测定的样品数量会显著减少。
2. 当 Reagent B 加入组分 Reagent A 时，开始可观察到有浑浊产生，属于正常现象，经混匀后浑浊会迅速消失。
3. 蛋白标准溶液提前放到室温融化，并且上下颠倒混匀，所有试剂均需恢复至室温方可使用。
4. 加入工作液后，务必在不同温度条件下要求的时间内读数，否则将超出酶标仪测量读数范围。
5. 每次测定蛋白样品时，都要绘制标准曲线，使测量结果准确。
6. 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。

操作流程

Operation Process

1. 配制标准品

- 取适量 BSA standard 稀释至终浓度为 0.5mg/mL。(如：取 25μL 10mg/mL BSA standard，加入 475μL 稀释液即可配制成 0.5mg/mL 蛋白标准) 。标准品稀释液为蛋白样品的溶解液，原则上蛋白样品用什么溶液溶解，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，也可以用生理盐水或灭菌水进行标准品稀释。

  稀释后的 0.5mg/ml 蛋白标准可以-20ºC长期保存。

2. Working Buffer 配制

- 计算所需的 Working Buffer 总体积

  Working Buffer 总量=[(BSA 标准品样本个数＋待测样本个数）× 复孔数+多配一个]× 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+多配一个]×200 μL (体积）= 6.8 mL。

- 配制 BCA 工作液

  根据计算出的 BCA 工作液的体积将 Reagent A 与 Reagent B 按照 50：1 的体积比，配制成 BCA 工作液，并充分混匀，BCA 工作液室温24小时内稳定。

3. 蛋白浓度测定

- 将标准品按 0、1、2、4、8、12、16、20μL 加到 96 孔板的标准品孔中（记得做复孔），加标准品稀释液补足到 20μL，相当于标准品浓度分别为 0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5mg/mL。
- 加 20μL 样品到 96 孔板的样品孔中（若不确定待测样品浓度是否在线性范围内可以多作几个梯度，如2倍、4倍、8倍稀释）。注: 如果样品不足 20μL，需加标准品稀释液补足到 20μL。请注意记录样品体积。
- 各孔加入 200μL BCA 工作液，37ºC 放置 20-30 分钟。

  注: 也可以室温放置 2 小时，BCA 法测定蛋白浓度时，颜色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。如果浓度较低，适合在较高温度孵育，或适当延长孵育时间。
- 用酶标仪测定 A562，或 540-595nm 之间的其他波长的吸光度，也可用分光光度计比色皿法检测蛋白浓度。

  注: 计算时应减去空白对照（稀释液+ Working Buffer）的吸光值。
- 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度。

  注：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。

保存条件

BSA Standard 干冰运输，-20°C保存，其他组分：室温运输，室温保存。

保质期：24个月