

BCA蛋白浓度测定试剂盒500微孔(50T)

货号：AC13858

规格：500微孔(50T)

保质期：有效期1年。

产品内容：

	包装 (500微孔)	保存
BCA试剂	100ml	室温
Cu试剂	3ml	室温
PBS稀释液	30ml	室温
BSA蛋白标准 (5mg/ml BSA)	1ml	-20°C

产品简介：

碱性条件下，蛋白将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ， Cu^+ 与BCA试剂形成紫蓝色的络合物，测定其在562nm处的吸收值，并与标准曲线对比，即可计算待测蛋白的浓度。常用浓度的去垢剂SDS，Triton X-100，Tween不影响检测结果，但受螯合剂(EDTA，EGTA)、还原剂(DTT，巯基乙醇)和脂类的影响。实验中，若发现样品稀释液或裂解液本身背景值较高，可试用Bradford蛋白浓度测定试剂盒。

操作说明：

一. 微孔酶标仪法

1. 配制工作液：根据标准品和样品数量，按50体积BCA试剂加1体积Cu试剂（50:1）配制成BCA工作液，充分混匀(混合时可能会有浑浊，但混匀后就会消失)。BCA工作液室温24小时内稳定。

2. 稀释标准品：取10微升BSA标准品用PBS稀释至100微升（样品一般可用PBS稀释），使终浓度为0.5mg/ml。将标准品按0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20微升加到96孔板的蛋白标准品孔中，加PBS补足至20微升。

3. 将样品作适当稀释（最好多做几个梯度，如作2倍、4倍、8倍稀释），加20微升到96孔板的样品孔中。由于移液器在取小量样品时误差偏大，标准线前面的点可能不很准确，所以尽可能的让样品点落在标准线1/2后。

4. 各孔加入200微升BCA工作液，37°C放置15-30分钟。用酶标仪测定A562nm，根据标准曲线计算出蛋白浓度。使用温箱孵育时，应注意防止因水分蒸发影响检测结果。

二. 分光光度计法

如没有酶标仪，可用分光光度计在离心管中混匀后加入比色皿中比色。

步骤如下：

1. 配制工作液: 根据标准品和样品数量，按50体积BCA试剂加1体积Cu试剂（50:1）配制成BCA工作液，充分混匀(混合时可能会有浑浊，但混匀后就会消失)。BCA工作液室温24小时内稳定。

2. 稀释标准品：取100微升BSA标准品用PBS稀释至1ml（样品一般可用PBS稀释），使终浓度为0.5mg/ml。

3. 取八支（或者更多）5ml离心管，标上号，按下表加入试剂。

离心管号	1	2	3	4	5	6	7（样品管1）	8（样品管2）	9（样品管3）
标准蛋白BSA	0	40ul	80ul	120ul	160ul	200ul	200ul适当稀释的样品1	200ul适当稀释的样品2
PBS	200ul	160ul	120ul	80ul	40ul	0	0	0	0
BCA工作液	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml

4. 37°C放置15-30分钟。用分光光度计测562nm处吸光值，根据标准曲线计算出蛋白浓度。

注意事项：

1. 长期不用时，Cu试剂与PBS稀释液可置于2-8°C保存，如发现细菌污染则应丢弃。BCA试剂在低温条件下出现结晶沉淀时，可37°C温育使其完全溶解，不影响使用。

2. 样品中若含有较多干扰物质时，请采用Bradford蛋白浓度测定试剂盒。

3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。