即用型BCA蛋白定量试剂盒

货号：PMK0442B

保存：室温保存，蛋白标准品-20℃保存，一年内有效。

规格：500T/1000T

产品简介:

增强型BCA蛋白定量试剂盒的原理是蛋白质分子中肽键结构在碱性条件下将二价铜离子还原为一价铜离子，一价铜离子与BCA分子形成紫色络合物。此络合物可用540-590nm波长检测，并在562nm处有最大的光吸收值。反应物的颜色和蛋白质浓度在一定范围内具有线性关系，故可以根据吸光度值的大小来测定蛋白的含量。该方法快速灵敏、稳定可靠，对不同种类蛋白质检测的变异系数非常小，倍受专业人士青睐。

BCA法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响，在组织细胞裂解实验中，对于5%浓度以内的去垢剂SDS，TritonX-100，Tween20，Tween80具有很好兼容性，但易受螯合剂(EDTA，EGTA)、还原剂(DTT、巯基乙醇)和脂类的影响。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。

检测范围： 在0.02-2mg/ml浓度范围内有较好的线性关系。

产品内容:

产品编号	名称	500T	1000T
PMK0442B-1	BCA试剂A	100mL	100mL*2
PMK0442B-2	BCA试剂B	3mL	6mL
PMK0442B-3	BSA标准品(0ug/ml)	1ml	1ml
PMK0442B-4	BSA标准品(125ug/ml)	1ml	1ml
PMK0442B-5	BSA标准品(250ug/ml)	1ml	1ml
PMK0442B-6	BSA标准品(500ug/ml)	1ml	1ml
PMK0442B-7	BSA标准品(750ug/ml)	1ml	1ml
PMK0442B-8	BSA标准品(1000ug/ml)	1ml	1ml
PMK0442B-9	BSA标准品(1500ug/ml)	1ml	1ml
PMK0442B-10	BSA标准品(2000ug/ml)	1ml	1ml

试剂准备:

BCA工作液配制：

将试剂A和试剂B按照体积比50: 1比例混合，配成BCA工作液，充分混匀。工作液总量= (BSA标准品样本个数＋待测样本个数)×200ul）。新配制的BCA工作液室温密封条件下可稳定保存24h。

操作说明:

一、微孔板测定程序:

1、分别取8个浓度的BSA标准品各20μl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%生理盐水将蛋白样品适当稀释(如5倍、10倍、20倍稀释)，加20ul到96孔板的样品孔中。

3、向96孔板中的各孔加入200ul BCA工作液，充分混匀，37℃孵育30分钟，冷却置室温。

注：也可以室温放置2小时，或60℃放置30分钟。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。如果蛋白浓度较低，可在较高温度孵育，或适当延长孵育时间。

4、 用酶标仪测定562nm处的吸光值并记录读数； 以BSA标准品(0ug/ml)的吸光值作为空白对照。

5、 以A562为纵坐标，BSA含量为横坐标，绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。如果所得到的蛋白浓度不在标准曲线范围内，请稀释样品后重新测定。

注：数据处理时需要去除明显错误的值，并减去空白对照的吸光度。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。

二、试管测定程序:

1、分别取8个浓度的BSA标准品各100ul加到试管中(BSA标准品使用前须充分溶解摇匀)。

2、用1*PBS或0.9%生理盐水将蛋白样品适当稀释(如5倍、10倍、20倍稀释)，加100ul到试管中。

3、向试管中加入2ml BCA工作液，充分混匀，37℃孵育30分钟，冷却置室温。

4、5步骤同上。

注意事项:

1、BCA试剂在低温条件下出现结晶沉淀时，可37℃温浴使其溶解，不影响使用。

2、待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准品也宜溶解于什么样的稀释液中，否则待测蛋白与蛋白标准品中所含非蛋白成分不一致 ，有可能导致测定不准确。

3、建议每次测定时都做标准曲线。因为BCA法测定时颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应的速度和温度有关，所以除非精确控制显色反应的时间和温度，否则如需精确测定需每次都做标准曲线。要想得到更为精确的蛋白浓度结果，建议每个蛋白标曲梯度和样品均做复孔。

4、如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，请试用Bradford 蛋白定量试剂盒(PMK0443)。

5、本试剂盒受螯合剂和略高浓度的还原剂影响，需确保EDTA低于10mM，无EGTA，二硫苏糖醇(DTT)低于1mM，β-巯基乙醇低于50uM，不适用BCA法时建议试用Bradford蛋白定量试剂盒(PMK0443)。

6、如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但测定时需根据比色皿的最小检测体积，按比例适当加大BCA工作液的用量使总体积不小于最小检测体积，样品和标准品的用量亦相应按比例放大。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。

7、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。

8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

PMK0443 Bradford蛋白定量试剂盒
PMK053S GAPDH mAb-HRP conjugated
PMK0213 RIPA（强）裂解液
PMK0023 1M Tris-HCL(PH6.8))
PMK0019 30%丙烯酰胺(29:1)
PMK1014 10%SDS-PAGE快速配胶试剂盒(红色)
PMK0563 Western快速电泳缓冲液(10×)

更多产品详情了解,请关注公众号: