微量 BCA 蛋白质定量试剂盒

产品货号： AR1110

产品批号： 见外包装标签

产品规格：

溶液 A	100ml
溶液 B	100ml
溶液 C	5ml
蛋白标准品	20ml（2mg/ml）

产品保存： 室温保存，一年有效。

产品说明：

1. 超敏感，最低检测浓度为 0.5 ug/mL。
2. 线性范围在 0.5～20 μg/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。
5. 试剂稳定，室温可以放置一年。
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，适合于分子量较小的蛋白质。
8. 有常规（普通试管）和微量（96 孔板）两种检测模式。

标准品以及工作液的制备：

A. 牛血清白蛋白标准品稀释液的制备

管号	稀释液体积	BSA标准品体积	终浓度
A	980ul	20ul（标准品原液中取）	40 μg/ml
B	400ul	400ul（从A管取）	20 μg/ml
C	400ul	400ul（从B管取）	10 μg/ml
D	400ul	400ul（从C管取）	5 μg/ml
E	400ul	400ul（从D管取）	2.5 μg/ml
F	600ul	400ul（从E管取）	1 μg/ml
G	400ul	400ul（从F管取）	0.5 μg/ml
H	800ul	0	0 μg/ml(空白孔)

注意：上表适用于微孔板法的标准品稀释，试管法的标准品稀释可按照具体使用量进行比例扩大。

B. 微量BCA工作液的制备

1. 使用下列公式计算出所需工作液的总体积：

（标准孔数 +待测样品孔数）×（重复数）×（每个样品孔的工作液体积）= 所需工作液的总体积

例如：标准的试管测定每个样品需要3个不同的稀释度和2次重复(8个标准孔 + 3个待测样品孔）×（2重复）×（1 ml）= 22 ml BCA工作液（可以多配到25 ml)。

注意：在试管检测法中，每个样品需要1ml的工作液，在微孔板检测中，每个样品需要150μl的工作液。

2. 配制 BCA 工作液：

先将溶液 A、溶液 B 和溶液 C 按 50：48：2 的比例混合，所得溶液即 BCA 工作液。比如：5 ml 溶液 A + 4.8 mL 溶液 B +200ul 溶液 C。

注意：试剂C刚加入到试剂A和试剂B中时，会产生浑浊并迅速消失呈清绿色溶液。制备足够体积的工作液以检测相应数量的样品。

使用方法：

一：微孔板测定法

1. 吸取150μl的标准品及未知样品分别至微孔板中。
2. 滴加150μl的工作液到每孔中并充分混合30秒。
3. 盖上微孔板并在37℃孵育2小时或60℃放置1小时。
4. 微孔板冷却至室温。
5. 10分钟内在酶标仪上测量562nm时的吸光值。注意：冷却至室温后依然会继续显色。但是，在室温时的显色比例已经很低，在10分钟内检测到的吸收值一般都不会有太大影响。
6. 绘制标准曲线，测量样品的浓度。

二：试管测定法

1. 吸取1.0ml的标准品及未知样品分别至对应标记的检测管中。

2. 滴加1.0ml的工作液至每管中并充分混合。
3. 盖上检测管并于60℃水浴孵育1个小时。
4. 所有试管冷却至室温。
5. 10分钟内在分光光度计上测量562nm时的吸光值。注意：冷却至室温后依然会继续显色。但是，在室温时的显色比例已经很低，在10分钟内检测到的吸收值一般都不会有太大影响。
6. 绘制标准曲线，测量样品的浓度。