

## BCA蛋白浓度测定试剂盒（外泌体专用）

产品货号：34002

产品规格：500 次

### 产品简介：

本产品是基于 BCA（Bicinchoninic Acid）原理优化研制而成，实现了对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。其原理是在碱性环境下蛋白质分子中的肽链结构能与  $\text{Cu}^{2+}$  络合生成络合物，同时将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^+$ 。BCA 试剂可敏感特异地与  $\text{Cu}^+$  结合，形成稳定的有颜色的复合物。在 562 nm 处有高的光吸收值，颜色的深浅与蛋白质浓度成正比，可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量。本试剂盒专为低蛋白浓度样品的蛋白定量而设计，最低测定浓度为  $0.2\mu\text{g/ml}$  的蛋白溶液，最高可检测  $2000\mu\text{g/ml}$  的蛋白溶液。本试剂盒的灵敏性高，平行性好，不同种蛋白之间的测量差异低。

每个试剂盒可以检测 500 个样品。

### 产品组成：

| 产品名称             | 500 次 | 保存条件              |
|------------------|-------|-------------------|
| 试剂 A             | 25mL  | 室温                |
| 试剂 B             | 25mL  | 室温                |
| 试剂 C             | 2.5mL | 室温                |
| 蛋白标准(BSA) 5mg/mL | 0.5mL | 4°C短期保存或-20°C长期保存 |

### 使用说明：

#### 1. 蛋白标准品的准备

取适量 5mg/mL 蛋白标准，用 PBS 稀释至终浓度为  $100\mu\text{g/ml}$ 。例如取  $10\mu\text{l}$  5mg/mL 蛋白标准，加入  $490\mu\text{l}$  PBS 即可配制成  $100\mu\text{g/ml}$  蛋白标准。蛋白样品在什么溶液中，标准品也应用什么溶液稀释。但是为了简便起见，也可以用 0.9% NaCl 或 PBS 稀释标准品。稀释后的蛋白标准需  $-20^\circ\text{C}$  长期保存。

#### 2. 工作液配制

根据样品数量，按 1 体积试剂 C 加 25 体积试剂 B，混匀后加 26 体积试剂 A，再次混匀（按照 C-B-A 的顺序加，切勿更改加样顺序）。配制适量 BCA 工作液，充分混匀。

#### 3. 蛋白浓度测定

- 将  $100\mu\text{g/ml}$  的蛋白标准按 0、1、2.5、5、10、20、40、60、80、 $100\mu\text{l}$  加到 96 孔板的标准品孔中，加标准品稀释液补足到  $100\mu\text{l}$ ，相当于标准品浓度分别为 0、1、2.5、5、10、20、40、60、80、 $100\mu\text{g/ml}$ 。标准品浓度可根据实际实验需求更改。
- 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足  $100\mu\text{l}$ ，需加标准品稀释液补足到  $100\mu\text{l}$ 。请注意记录样品体积。
- 各孔加入  $100\mu\text{l}$  工作液， $60^\circ\text{C}$  放置 50 分钟。
- 用酶标仪测定 A562，或 540-595nm 之间的其他波长的吸光度。
- 根据标准品浓度和 A562 值做出标准曲线，根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

#### 注意事项:

1. 需酶标仪一台, 测定波长为 540-595nm 之间, 562nm 最佳。需 96 孔板。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, 适当加大工作液的用量使之不小于最小检测体积, 样品和标准品的用量可相应按比例放大也可不变。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会显著减少。
2. 使用本试剂盒时, EDTA 浓度必须小于 10mM, 不兼容 EGTA。
3. 本试剂盒用于外泌体定量时, 需将外泌体裂解提取蛋白后定量, 不可直接将外泌体用于本试剂盒定量。
4. 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。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 常见问题:

1. 测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加, 吸光度或颜色没有明显变化。  
可能的原因是样品中含有严重干扰 BCA 法测定蛋白浓度的物质。
2. 是否每次测定时都需要做标准曲线?  
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, 否则如需精确测定宜每次都做标准曲线。
3. 如酶标仪读取数据在标准曲线最小浓度读取值以下, 建议将蛋白标准继续稀释并重新测定标准曲线。
4. 根据本试剂盒说明书, 蛋白标准所测得的蛋白浓度为 100 $\mu$ l 时的蛋白浓度。因此, 实际样品浓度=标曲计算所得浓度 $\times$ 100 $\mu$ l / X (X=步骤 3b 加入样品体积, 单位为 $\mu$ l)。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com