

产品概述

本试剂盒系依据蛋白质分子在碱性溶液中将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ，2, 2'-联喹啉-4, 4'-二羧酸（BCA）与 Cu^+ 结合形成紫色复合物，在一定范围内其颜色深浅与蛋白质浓度呈正比，以蛋白质标准品溶液作标准曲线，采用比色法测定供试品中蛋白质的含量。

试剂组成

组分	BR4D201-01 250T	BR4D201-02 500T	BR4D201-03 2500T
BSA Standard (1mg/mL)	1 mL	2*1 mL	10*1 mL
BCA Reagent A	50 mL	100 mL	2*250 mL
BCA Reagent B	1 mL	2*1 mL	10 mL

保存条件

BSA Standard (1mg/mL) 保存于 -20°C 。

BCA Reagent A、B 保存于 $5^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ 。

*试剂盒 $2-8^{\circ}\text{C}$ 运输到货后，分别在各自保存条件下保存。使用前应混匀，避免反复冻融。

使用说明

1. BCA 工作液配制

根据实验样本检测量，取 BCA Reagent A: B 体积比为 50: 1 临用前混合，摇匀，即得 BCA 工作液。

2. BSA 蛋白标准品

准备一块酶标板，按以下稀释步骤稀释，依次加入酶标板孔中，平行 2 孔。

8 个浓度梯度的 BSA 标准品配制：

Vial	1mg /mL BSA(μL)	纯化水(μL)	蛋白终浓度($\mu\text{g/mL}$)
STD 1	0	50	0
STD 2	1	49	20
STD 3	2	48	40
STD 4	4	46	80
STD 5	6	44	120
STD 6	8	42	160
STD 7	10	40	200
STD 8	15	35	300

3. 供试品

将供试品稀释适当倍数，使稀释后的供试品蛋白浓度在标准线性范围内。取 $50 \mu\text{L}$ 稀释好的供试品加入至酶标板中，平行 2 孔。

4. 向 BSA 蛋白标准品、供试品分别加入 $200 \mu\text{L}$ BCA 工作液，振荡混匀。

5. 将酶标板置于 37°C 孵育 30 分钟。
6. 将酶标板取出, 置于室温冷却 10 分钟。
7. 在 562nm 波长设置下, 使用紫外分光光度计测定样品 OD 值。
8. 数据处理
 - a. 以 BSA 蛋白标准品 OD 值为纵坐标, 对应蛋白质浓度为横坐标, 计算出 BSA 蛋白标准品线性方程。
 - b. 将供试品测得的 OD 值代入标准线性方程, 计算得到初始蛋白浓度, 乘以供试品稀释倍数, 得到供试品最终蛋白浓度。

质量控制

1. 标准品线性: 标准品线性拟合方程 $R^2 \geq 0.99$;
2. 精密度: 标准品、供试品检测复孔 RSD% $\leq 10\%$;
3. 准确度: 企业自制内控品检测误差 $\leq 10\%$ 。

技术说明

1. BCA 法测定蛋白含量时, 反应颜色会随着时间的延长而不断加深, 反应速度与温度有关, 因此测定样品时建议保持实验室恒定的环境温度以及严格控制反应和检测时间。
2. 本使用说明按酶标仪检测设计实验。实验室配备紫外分光光度计条件情况下, 可考虑使用该读数。
3. 蛋白标准品尽量避免反复冻融, 开启后请尽快使用完。
4. 为了您的安全和健康, 实验时请佩戴一次性手套操作。