

## 极速五分蛋白定量试剂盒

| 产品货号   | 产品名称                             | 产品规格 |
|--------|----------------------------------|------|
| S81013 | 极速五分蛋白定量试剂盒                      | 500T |
| 储运条件   | BSA 标准品 -20℃ 保存，其它组分 4℃ 保存；冰袋运输。 |      |

### 产品参数

| 组分                     | 500 T      |
|------------------------|------------|
| A、试剂 A                 | 100 mL     |
| B、试剂 B                 | 1.5 mL × 2 |
| C、BSA 标准品①（2000 μg/mL） | 1 mL       |
| D、BSA 标准品②（1500 μg/mL） | 1 mL       |
| E、BSA 标准品③（1000 μg/mL） | 1 mL       |
| F、BSA 标准品④（750 μg/mL）  | 1 mL       |
| G、BSA 标准品⑤（500 μg/mL）  | 1 mL       |
| H、BSA 标准品⑥（250 μg/mL）  | 1 mL       |
| I、BSA 标准品⑦（125 μg/mL）  | 1 mL       |
| J、BSA 标准品⑧（0 μg/mL）    | 1 mL       |

注：本品 C、D、E、F、G、H、I、J 组分为无色液体，无沉淀；A 组分为淡黄色液体，无沉淀；B 组分为蓝色液体，无沉淀。

### 产品介绍

极速五分蛋白定量试剂盒是一款基于创新螯合技术的高效蛋白质浓度检测工具，其原理与传统 BCA 法同源，但通过突破性的螯合剂优化，实现了检测效率与性能的双重升级，适用于科研、生物制药及临床检测等领域的蛋白质定量分析。在碱性条件下，蛋白质分子中的肽键与铜离子（Cu<sup>2+</sup>）发生络合反应，促使 Cu<sup>2+</sup> 被还原为亚铜离子（Cu<sup>+</sup>）。本试剂盒采用全新特异性螯合剂替代传统 BCA 试剂，该螯合剂可在室温下快速捕获 Cu<sup>+</sup>，以 1：2 的摩尔比形成稳定的橙黄色水溶性复合物。此复合物在 480 nm 波长处具有强烈吸光特性，其颜色深浅与蛋白质浓度呈严格的线性正相关，通过测定吸光度即可精准计算样品中的蛋白质含量。配套即用型蛋白质标准品溶液（系列浓度预配完成），无需稀释，可直接绘制标准曲线，快捷省时。

### 应用范围

#### 蛋白定量

## 产品特点

1. **极速显色**：室温 5 分钟极速显色，高效省时；
2. **极简操作**：即用标准品免稀释，操作便捷；
3. **精准可靠**：数据重复性与准确性双高；
4. **宽域灵敏检测**：线性范围 20~2,000  $\mu\text{g/mL}$ ；
5. **多元兼容**：兼容金属离子、螯合剂及常见去污剂。

## 注意事项

1. 蛋白标准溶液提前放到室温融化，并且上下颠倒混匀，所有试剂在使用前均恢复至室温后使用。
2. 建议每次测定蛋白样品时，都要绘制标准曲线，使测量结果准确，条件允许时，每个标准品和待测样品均建议测定  $\geq 2$  个平行反应（至少复孔），以提高测量的准确性。
3. 加入工作液于室温条件反应 5 min 后，务必在 30 min 内读数，否则将超出酶标仪测量度数范围。
4. 建议使用多道移液器快速准确地加入工作液，避免同批次实验不同孔位间出现 1 min 以上的时间差导致试剂反应进度差距过大。
5. 当试剂 B 加入到试剂 A 时，开始可观察到有浑浊产生，属于正常现象，经搅拌后浑浊会迅速消失，得到绿色澄清工作液。
6. 本产品支持酶标仪微孔法与分光光度计比色皿法检测蛋白浓度。采用分光光度计时，需依据比色皿最小检测体积调整 BCA 工作液用量（确保不低于其最小体积），样品及标准品用量需按同比例放大。受此影响，使用分光光度计检测时，单个试剂盒可测定的样品数量会显著减少。
7. 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

## 操作步骤（仅供参考）

以微孔板酶标仪检测为例：

1. 将酶标仪打开预热 20 min 以上，检测波长设置为 480 nm。
2. BCA工作液配制

### 1) 计算确定所需的工作液总体积

BCA 工作液总量 = (BSA 标准品样本个数 + 待测样本个数  $\times$  稀释梯度数)  $\times$  复孔数  $\times$  每个样本所需 BCA 工作液的体积。

例如：试剂盒需要做 BSA 标准品样本个数为 8 个，待测样本个数为 3 个，每个样品稀释 3 个梯度，复孔数为 2 个。BCA 工作液总量 = (8 个 BSA 标准品 + 3 待测样本  $\times$  3 + 多制备 1)  $\times$  2  $\times$  200 = 7.2 mL。

2) 根据计算出的 BCA 工作液的体积, 将试剂 A 与试剂 B 按照 50:1 的体积比, 配置成 BCA 工作液, 并充分混匀。例如: 在 7 mL 试剂 A 中加入 140  $\mu$ L 试剂 B。

**注: a.当试剂 B 加入到试剂 A 时, 开始可观察到浑浊产生, 属于正常现象, 混匀后浑浊迅速消失, 得到绿色澄清工作液。**

**b.BCA 工作液建议现配现用, 在室温条件下, 该溶液颜色会逐渐加深, 1.5 小时内使用, 不会影响定量检测的准确性。**

**c.建议配制 BCA 工作液时, 多配制 1~2 个孔的使用量。**

### 3. 定量检测

1) 取 BSA 标准品 ①~⑧ 各 20  $\mu$ L, 加入到 96 孔透明板中, 做复孔;

| 孔号                       | A    | B    | C    | D    | E    | F    | G    | H    |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 标准品                      | 标准品⑧ | 标准品⑦ | 标准品⑥ | 标准品⑤ | 标准品④ | 标准品③ | 标准品② | 标准品① |
| 体积 ( $\mu$ L)            | 20   | 20   | 20   | 20   | 20   | 20   | 20   | 20   |
| BSA 终浓度<br>( $\mu$ g/mL) | 0    | 125  | 250  | 500  | 750  | 1000 | 1500 | 2000 |

2) 若不确定待测样品浓度是否在线性范围内, 则使用 1 $\times$ PBS 或生理盐水将样品稀释多个梯度 (如倍比稀释至 2 倍、4 倍、8 倍和 16 倍), 分别各取样品 20  $\mu$ L 加入到 96 孔板中;

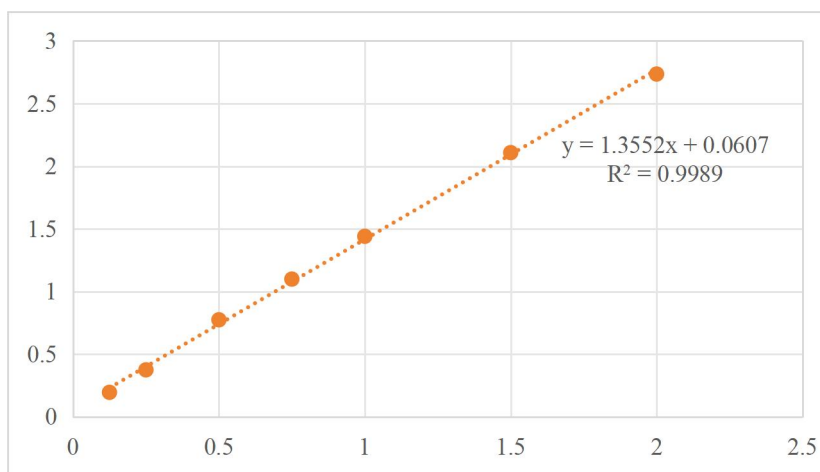
3) 在每个孔中加入 200  $\mu$ L 工作液充分混匀 30 s, 盖上 96 孔板板盖或使用不透明封板膜封板, 室温孵育 5 min;

**注: 由于反应速度较快, 请在 30 min 之内完成酶标仪检测读数。若必须在 30 min 后才能检测读数, 可提前加入 50  $\mu$ L 1 M HCl 终止反应。**

4) 用酶标仪读取每个样品及标准品在 480 nm 处的吸光值, 计算时应减去空白对照 (标准品⑧ + 工作液) 的吸光值;

5) 绘制标准曲线, 计算待测样品中的蛋白浓度。

### 典型标准曲线



## FAQ

1. 问：是否每次测定时都需要做标准曲线？

答：建议每次测定都随样品做标准曲线。本产品显色反应比较迅速，且显色反应的时间和温度会直接影响测定时的吸光度，在 1 分钟内也会显示出差异。

2. 问：和其他方法检测结果差异大？

答：与其他蛋白定量方法（如紫外分光光度法在 280 nm 测吸光值）相比，所得蛋白浓度结果不同。因为不同蛋白氨基酸组成有差异，与 BCA 试剂相互作用不同，吸光情况有区别。

3. 问：在绘制标准曲线时，随标准品浓度升高，吸光度及颜色变化未达预期显著程度？

答：这可能是由于样品中含有如 DTT、巯基乙醇、TCEP 等还原剂，这类物质会对蛋白浓度检测产生干扰。建议先对样品进行稀释处理，或通过适当纯化步骤去除干扰成分后再进行测定。常见干扰物质兼容性见附件表格。

4. 问：如果样品比较珍贵或者原液体积较少，不足 20  $\mu$ L，该如何进行检测？

答：针对样品量较少的情况可以直接进行相应比例稀释后的样品进行检测，上样量要与标准品保持一致，否则检测结果容易出现远高于实际浓度的情况。

附表：干扰物质兼容性

| 干扰物质                           | 耐受浓度   | 干扰物质              | 耐受浓度   |
|--------------------------------|--------|-------------------|--------|
| Bicine, pH 8.4                 | 20 mM  | SDS               | 5%     |
| ACES, pH7.8                    | 25 mM  | Triton X-100      | 5%     |
| EPPS, pH 8.0                   | 100 mM | Deoxycholic acid  | 5%     |
| Cesium bicarbonate             | 100 mM | NP-40             | 5%     |
| HEPES, pH 7.5                  | 100 mM | Tween-20          | 5%     |
| Imidazole, pH 7.0              | 50 mM  | EDTA              | 10 mM  |
| Sodium bicarbonate             | 100 mM | CHAPS             | 5%     |
| Sodium chloride                | 1 M    | Glucose           | 10 mM  |
| Sodium azide                   | 0.2%   | Sodium citrate    | 200 mM |
| Ferric chloride in TBS, pH 7.2 | 10 mM  | DMSO              | 10%    |
| CHES, pH 9.0                   | 100 mM | Ethanol           | 10%    |
| Tris                           | 250 mM | Glycerol          | 10%    |
| Na-Citrate                     | 75 mM  | Acetone           | 10%    |
| Sodium phosphate               | 100 mM | Ethanol           | 10%    |
| Glycine·HCl,pH2.8              | 100 mM | DMF               | 10%    |
| Guanidine·HCl                  | 4 M    | Hydrochloric acid | 100 mM |
| Tricine, pH 8.0                | 25 mM  | Methanol          | 10%    |
| MOPS, pH7.2                    | 100 mM | Ammonium sulfate  | /      |
| PIPES, pH6.8                   | 100 mM | DTT               | /      |
| MES, pH 6.1                    | 100 mM | 2-Mercaptoethanol | /      |