

HIV-1 慢病毒 BCA 法蛋白定量试剂盒说明书

CAT: PQ01 规格: 250T

产品简介

BCA(bicinchoninic acid)蛋白定量检测法具有灵敏度高、结果稳定、操作简捷等特点,被广泛应用于总蛋白的定量检测。BCA 检测法的原理是 Cu^{2+} 在碱性的条件下,被蛋白质还原成 Cu^{+} , Cu^{+} 和 BCA 相互作用形成紫色的反应络合物,可在 562 nm 处显示强烈的吸光值,与蛋白浓度呈现良好的线性关系。

试剂盒组分

| 组分 | 规格 | 数量 | 贮存条件 |
|----------------|----------|----|------|
| 标准蛋白 S1~S7, S0 | 1.5 mL/管 | 8 | 室温 |
| A 液 | 10 mL/瓶 | 5 | 室温 |
| B 液 | 1 mL/管 | 1 | 室温 |
| 慢病毒样本裂解液 | 50 mL/瓶 | 1 | 室温 |

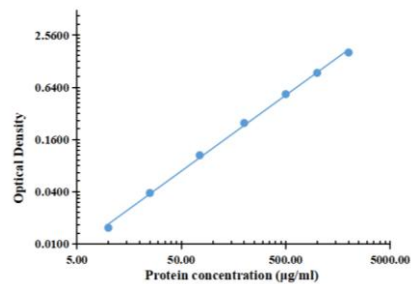
样本制备

用慢病毒样本裂解液稀释样本。慢病毒样本建议稀释 40 倍,即 5 μL 慢病毒样本中加入 195 μL 慢病毒样本裂解液。如不在标准曲线范围内,调整稀释倍数。

使用方法

- 按需用量配制适量 BCA 工作液。试剂 A 与试剂 B 以体积比 50:1 混合,充分混匀。
- 微孔板中加入 50 μL 标准蛋白、待测样本。
- 加入 200 μL BCA 工作液。
- 室温反应 20 分钟。
- 酶标仪 562 nm 波长测量吸光度值。
- 计算标准蛋白和待测样本的实际吸光度值(即各孔吸光度值 - 空白平均吸光度值)。
- 绘制标准蛋白曲线,拟合回归方程,计算待测样本蛋白浓度。

结果示例



| $\mu\text{g/ml}$ | O.D. | Average | Corrected |
|------------------|--------|---------|-----------|
| 0.00 | 0.1039 | 0.1039 | |
| 10.00 | 0.1196 | 0.1190 | 0.0154 |
| 25.00 | 0.1424 | 0.1430 | 0.0388 |
| 75.00 | 0.2098 | 0.2094 | 0.1057 |
| 200.00 | 0.3519 | 0.3540 | 0.2491 |
| 500.00 | 0.6408 | 0.6380 | 0.5355 |
| 1000.00 | 1.0423 | 1.0500 | 0.9423 |
| 2000.00 | 1.7229 | 1.7210 | 1.6181 |

附表

可兼容干扰物质及浓度

| 干扰物质 | 最大抗干扰浓度 | 干扰物质 | 最大抗干扰浓度 |
|------------------------------|---------|-------------------|---------|
| SDS | 5% | Sodium azide | 0.2% |
| Dithiothreitol (DTT) | 1 mM | 2-Mercaptoethanol | 0.01% |
| CHAPS | 5% | EDTA | 10 mM |
| Glycerol | 10% | Urea | 3 M |
| DMSO | 5% | NaOH | 0.25 M |
| $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | 1.5 M | Guanidine HCl | 10 mM |
| Tris, pH 8.0 | 250 mM | Acetone | 10% |
| Potassium thiocyanate | 3.0 M | TritonX-100/X-114 | 5% |

试剂盒特点

- 每次使用前请检查试剂是否出现沉淀。如果有沉淀，请在 37°C 温浴，溶解沉淀后再使用。如果有任何试剂出现变色或微生物污染即丢弃。
- BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度会随着时间的延长不断加深，因此所有样品的测定需在 10 分钟内完成，否则会影响蛋白定量的准确度。
- 待测样品中如含有较高浓度的非离子型表面活性剂，普通 Lowry 法会因反应液出现沉淀而无法检测，BCA 检测法则不会有此情况发生，但是会导致待测样品显色反应加深，仍将产生测定误差。样品中大多数离子型和非离子型表面活性剂的影响。
- 待测样品中如含有螯合剂，或处于强酸、强碱条件则会导致负吸收值。
- 如含有脂类物质会导致吸收值明显升高。
- 如因上述干扰因素存在，造成测定误差，请通过稀释、透析或其他处理方式，使干扰物质浓度降至 BCA 检测最大兼容浓度以下。
- 如果酶标仪没有 562 nm 检测波长，540 - 590 nm 之间的波长也可接受。
- 为了您的安全和健康，请穿戴实验防护服、手套、口罩等必要的防护装备。

注意事项

- **准确灵敏：**检测范围为 10 - 2000 $\mu\text{g/ml}$ 。
- **操作简单：**所需样品少，检测试剂少，操作简捷，室温孵育 10 分钟完成测定。
- **兼容性好：**不受样品中大多数离子型和非离子型表面活性剂的影响。
- **稳定性好：**在室温可稳定保存 12 个月。