

# 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  $\text{Cu}^{2+}$  在碱性的条件下，被蛋白质还原成  $\text{Cu}^+$ ， $\text{Cu}^+$  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/瓶	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

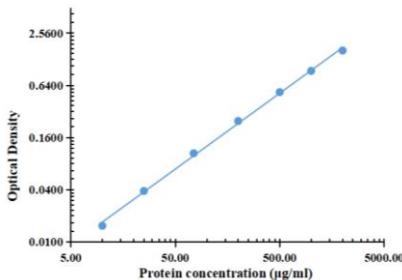
## 样本制备

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  $\mu\text{l}$  慢病毒样本中加入 195  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  标准蛋白、待测样本。
- 加入 200  $\mu\text{l}$  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



μg/ml	O.D.	Average	Corrected
0.00	0.1039	0.1039	0.1039
10.00	0.1196	0.1190	0.1193
25.00	0.1424	0.1430	0.1427
75.00	0.2098	0.2094	0.2096
200.00	0.3519	0.3540	0.3530
500.00	0.6408	0.6380	0.6394
1000.00	1.0423	1.0500	1.0462
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  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。
- **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。