

BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒

产品编号	产品名称	包装
P0398S	BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒	200次
P0398M	BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒	1000次
P0398L	BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒	5000次

产品简介:

- 碧云天研发生产的BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒, 即BeyoBCA Rapid Protein Assay Kit, 也称BeyoBCA蛋白浓度快速检测试剂盒(宽线性范围) (BeyoBCA Rapid Protein Assay Kit with Wide Range)或BeyoBCA蛋白快速定量试剂盒(宽线性范围) (BeyoBCA Rapid Protein Assay Kit with Broad Range), 是一种仅需室温孵育5分钟, 就可以在0.04-10mg/ml宽线性范围内精确进行蛋白浓度便捷检测的试剂盒。
- 本试剂盒根据目前最常用的两种蛋白浓度检测方法之一BCA法改良研制而成[1], 提供改进的BeyoBCA试剂以及高质量的蛋白标准品, 仅需室温孵育5分钟, 就可以实现简单便捷、高稳定性、高灵敏度、高兼容性和宽线性范围蛋白浓度测定。
- 本试剂盒与Thermo公司的Pierce™ Dilution-Free™ Rapid Gold BCA Protein Assay Kit (A55860/A55861/A55862)检测原理和检测方法基本一致。
- **本试剂盒具有0.04-10mg/ml的超宽浓度检测范围。**本试剂盒的检测上限是BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0011/P0012)或BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型) (P0009/P0010)的5-10倍。这种宽浓度范围, 在检测常规的细胞或组织裂解液等样品蛋白浓度的时候, 可以省去稀释步骤, 即可在线性检测范围内进行蛋白定量。
- **本试剂盒检测灵敏度高, 样品用量少。**本试剂盒检测样品体积为1-10 μ l, 大大节约了样品用量。室温孵育5分钟的优先推荐条件下, 检测浓度下限达到20 μ g/ml, 最小检测蛋白量低至0.2 μ g。37 $^{\circ}$ C孵育30分钟条件下, 检测下限可以达到5 μ g/ml, 最小检测蛋白量低至50ng。
- **本试剂盒检测速度极快。**标准检测条件下, 室温孵育5分钟即可进行吸光度测定。
- **本试剂盒在0.04-10mg/ml浓度范围内有较好的线性关系。**本产品的标准曲线参考图1。其中图1A为最优先推荐的室温孵育5分钟该标准检测条件下的标准曲线; 图1B为蛋白浓度在2mg/ml以内的室温孵育5、15和30分钟的标准曲线; 图1C为蛋白浓度在2mg/ml以内的37 $^{\circ}$ 孵育5、15和30分钟的标准曲线。孵育时间及孵育温度可以根据检测需要灵活调整, 更长的孵育时间或更高的孵育温度, 都可以提升检测灵敏度。

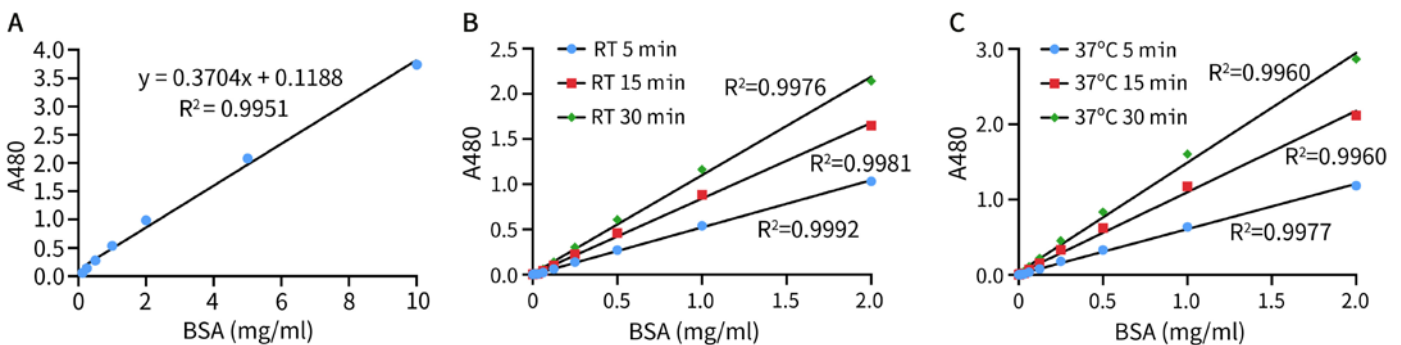


图1. 碧云天BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒(P0398)检测BSA标准曲线的效果图。图A为本试剂盒优先推荐的室温孵育5分钟该标准检测条件下的BSA标准曲线检测效果图。图B和C分别为室温或37 $^{\circ}$ 孵育5、15和30分钟的标准曲线。图中数据仅供参考, 实际的检测效果可能会略有不同。

- **本试剂盒化学兼容性好。**使用本试剂盒测定蛋白浓度, 不受绝大部分样品中的化学物质的影响, 但受螯合剂和某些略高浓度的还原剂或去垢剂的影响, 需确保EDTA不高于5mM, Tween 20不高于0.5%, 且无二硫苏糖醇(DTT)、三(2-羧乙基)膦酸盐(TCEP)。本试剂盒对于碧云天生产的常用裂解液(P0013/P0013B/P0013C)完全兼容, 使用这些产品裂解的样品可以不稀释直接进行蛋白浓度检测。本试剂盒兼容胺反应性标记试剂(如生物素化试剂)。本试剂盒对样品中各种物质的详细的兼容性如下表。如果样品中含有1-2%的Tween 20, 设置含有相应量Tween 20的空白对照, 也可以进行蛋白浓度检测。如果样品中含有其它不兼容的化学物质, 可以尝试设置适当的含有相应不兼容化合物的空白对照, 以确认是否可以顺利进行蛋白浓度检测。

Substance	Compatible Concentration
Acetonitrile	50%
Acetone	50%

Ammonium bicarbonate	50mM
DMSO	50%
DTT (Dithiothreitol)	Not compatible
EDTA	5mM
Formic acid	0.5%
Iodoacetamide	1M
Methanol	25%
SDS	1%
TCEP	Not compatible
Tris	100mM
Trifluoroacetic acid	0.5%
Triton X-100	5%
Tween 20	0.5%
Urea	1M

- 如果待检测样品浓度特别低，推荐使用高灵敏的BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度) (P0399)，该试剂盒室温孵育15分钟的标准检测条件下，检测下限可以达到2 μ g/ml，最小检测蛋白量低至40ng，待测样品体积需1-20 μ l。
- 本试剂盒和BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度) (P0399)及BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0011/P0012)、BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型) (P0009/P0010)的主要特点和差异比较请参考下表。优先推荐选购BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒(P0398)，检测浓度范围非常宽，通常可以免稀释测定蛋白浓度，并且仅需室温孵育5分钟，共计约10分钟就可以完成蛋白浓度的测定。经费比较宽裕的情况下推荐选购BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度) (P0399)，该试剂盒一方面可以实现高灵敏度检测，同时也可以进行室温孵育5分钟快速检测，并且也同样具有非常宽的线性范围(主要为中低浓度范围)，但价格略高。

产品编号	P0398	P0399	P0011/P0012	P0009/P0010
产品名称	BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒	BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度)	BCA蛋白浓度测定试剂盒	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)
检测方法	显色法	显色法	显色法	显色法
检测范围	40-10,000 μ g/ml	4-2000 μ g/ml	50-2000 μ g/ml	20-1000 μ g/ml
检测浓度下限	20 μ g/ml	2 μ g/ml	25 μ g/ml	10 μ g/ml
待测样品体积	1-10 μ l	1-20 μ l	1-20 μ l	1-20 μ l
EDTA兼容性	\leq 5mM	\leq 5mM	\leq 10mM	\leq 10mM
还原剂兼容性	No	No	DTT \leq 1mM、 β -巯基乙醇 \leq 0.01%	DTT \leq 1mM、 β -巯基乙醇 \leq 0.01%
去垢剂兼容性	Tween 20 \leq 0.5%、 Triton X-100 \leq 5%、SDS \leq 1%	Tween 20 \leq 0.5%、 Triton X-100 \leq 1%、SDS \leq 1%	Tween 20 \leq 5%、Triton X-100 \leq 5%、SDS \leq 5%	Tween 20 \leq 5%、Triton X-100 \leq 5%、SDS \leq 5%
检测时间	5分钟	15分钟	20-30分钟	20-30分钟
孵育温度	室温	室温	37 $^{\circ}$ C	37 $^{\circ}$ C
便捷性	★★★★★	★★★★★	★★★★	★★★★
推荐指数	★★★★★	★★★★★	★★★★	★★★★

- 本试剂盒小包装可检测200个样品，中包装可检测1000个样品，大包装可检测5000个样品。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P0398S-1	BeyoBCA Reagent A	20ml
P0398S-2	BeyoBCA Reagent B	19.2ml
P0398S-3	BeyoBCA Reagent C	0.8ml
P0398S-4	Protein Standard (BSA)	20mg
P0398S-5	BSA Preparation Solution	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0398M-1	BeyoBCA Reagent A	100ml
P0398M-2	BeyoBCA Reagent B	96ml
P0398M-3	BeyoBCA Reagent C	4ml

P0398M-4	Protein Standard (BSA)	30mg
P0398M-5	BSA Preparation Solution	1.5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0398L-1	BeyoBCA Reagent A	500ml
P0398L-2	BeyoBCA Reagent B	480ml
P0398L-3	BeyoBCA Reagent C	20ml
P0398L-4	Protein Standard (BSA)	30mg×2
P0398L-5	BSA Preparation Solution	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

4°C保存，一年有效。其中BeyoBCA Reagent B须避光保存；Protein Standard (BSA)配制成溶液后-20°C冻存。

注意事项：

- 通常仅推荐室温孵育5分钟该条件下进行蛋白浓度检测。仅当蛋白浓度过低时，推荐延长孵育时间及提高孵育温度，例如在37°C孵育30分钟或更长时间。室温孵育时间超过5分钟可能会导致高浓度标准品的吸光度达到平台而无法进一步升高，导致高浓度样品无法准确进行蛋白定量。
- BeyoBCA Reagent A、B、C长期储存后如果有沉淀析出，可37°C水浴加热或搅拌使沉淀溶解，若仍出现浑浊，则应充分振荡混匀，并在获得澄清透明溶液后使用。
- 需酶标仪一台，测定波长为480nm。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可能会显著减少。
- 如果样品中EDTA浓度高于5mM但低于10mM，或含有浓度低于1mM的二硫苏糖醇(DTT)、浓度低于0.01%的β-巯基乙醇(β-Mercaptoethanol)等还原剂时，推荐使用碧云天BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0011/P0012)或BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(P0009/P0010)。
- 如果样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，或样品中EDTA浓度高于10mM，或样品含有较高浓度的二硫苏糖醇(DTT)、β-巯基乙醇(β-Mercaptoethanol)等还原剂时，推荐使用碧云天Bradford蛋白浓度测定试剂盒(P0006)或Bradford蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型)(P0006C)。
- 所有试剂需平衡至室温后再使用，使用完毕后各试剂应立即按照试剂盒要求的条件保存。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 蛋白标准品的准备。

- 取0.8ml或1.2ml BSA Preparation Solution加入到一管20mg或30mg Protein Standard (BSA)中，充分溶解后配制成25mg/ml的蛋白标准溶液。配制后可立即使用，也可以-20°C长期保存。
- 取适量25mg/ml Protein Standard (BSA)，稀释至终浓度为10mg/ml。例如取400μl 25mg/ml Protein Standard (BSA)，加入600μl稀释液即可配制成10mg/ml Protein Standard (BSA)。蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，如果蛋白样品所在溶液不含有干扰本试剂盒检测的物质，也可以用0.9% NaCl、PBS或水稀释标准品。稀释后的10mg/ml Protein Standard (BSA)可以-20°C长期保存。
注：稀释液不能是强酸或强碱性的溶液。
- 按照下表配制0、0.125、0.25、0.5、1、2、5、10mg/ml Protein Standard (BSA)。每次稀释时注意充分混匀。

Vial Number	Volume of Dilution Buffer	Volume of Protein Standard	Final Concentration
A	0μl	70μl Protein Standard (BSA) (10mg/ml)	10mg/ml
B	35μl	35μl of Vial A	5mg/ml
C	45μl	30μl of Vial B	2mg/ml
D	35μl	35μl of Vial C	1mg/ml
E	35μl	35μl of Vial D	0.5mg/ml
F	35μl	35μl of Vial E	0.25mg/ml
G	35μl	35μl of Vial F	0.125mg/ml
H	35μl	0μl	0mg/ml

2. BeyoBCA工作液(BeyoBCA Working Solution)的配制。

每个反应需200µl BeyoBCA工作液，根据待检测样品(包括标准品)的数量，按50体积Reagent A，加48体积Reagent B，加2体积Reagent C (50:48:2)的比例配制适量BeyoBCA工作液，充分混匀。具体配制方法参考下表。BeyoBCA工作液室温30分钟内稳定。

Samples	1	10	20	50
Reagent A (µl)	100	1000	2000	5000
Reagent B (µl)	96	960	1920	4800
Reagent C (µl)	4	40	80	200
BeyoBCA Working Solution (µl)	200	2000	4000	10,000

3. 蛋白浓度测定。

- 取10µl不同浓度蛋白标准品(步骤1c)加到96孔板的标准品孔中。96孔板推荐碧云天的BeyoGold™ 96孔细胞培养板(FCP962)。
- 加适当体积样品到96孔板的样品孔中。如果样品不足10µl，加标准品稀释液补足到10µl。样品原体积记录为V µl。
- 各孔加入200µl BeyoBCA工作液，使用微孔板振荡器混匀30秒或其它适当方法混匀，室温(25°C左右)放置5分钟。微孔板振荡器推荐碧云天的BeyoVortex™数字式微孔板振荡器(E6839)。

注1: 孵育时间可适当延长，但如果希望得到覆盖全范围(0-10mg/ml)的线性信号，孵育时间不能超过10分钟。如果短时间内无法完成测定，可以在显色结束后加入50µl的1M HCl终止反应，并在1小时内完成检测，以尽可能减小对实验结果的影响。

注2: 如果在室温放置5分钟后样品没有充分显色，孵育时间可适当延长至30-60分钟。但孵育时间过长会导致高浓度的蛋白标准品的吸光度达到平台而不能被用于线性标准曲线的计算。本方法测定蛋白浓度时，颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应会因温度升高而加快，因此应控制好孵育温度和时间。不同孵育时间和不同孵育温度的标准曲线请参考图1。如果希望进一步提高检测灵敏度，可以在37°C孵育30-60分钟。进行样品浓度计算时，须根据吸光度仅取在线性浓度范围的数据拟合标准曲线并完成相应计算。

- 用酶标仪测定A480波长的吸光度，标准品和样品的吸光度测量值均需减去0mg/ml空白标准品吸光度测量值，由此计算出经过空白校正后的标准品和样品吸光度，并用于绘制标准曲线及样品浓度计算。
- 根据标准曲线计算出样品孔的蛋白浓度B (mg/ml)。如果加入样品为10µl，则样品孔的蛋白浓度B即为样品浓度；如果加入样品不足10µl，原体积记录为V µl，则样品浓度C (mg/ml)=B × 10 / V。
- 计算示例：

样品原体积V=4µl，加入样品孔中后再加6µl稀释液补足至10µl。参考以上步骤进行检测，所有测量出的吸光度减去0µg/ml空白标准品吸光度测量值，得到空白校正后的吸光度。用空白校正后的标准品吸光度值对标准品浓度进行作图并拟合标准曲线，得到标准曲线公式。例如，图1中的标准曲线拟合的公式为 $y = 0.3704x + 0.1188$ 。如果检测的样品孔吸光度经过空白校正后为0.845，作为y代入图1的标准曲线公式，计算出的x即样品孔的蛋白浓度B (mg/ml)=1.96mg/ml，则样品中的蛋白浓度为C (mg/ml)=1.96 × 10/4=4.9mg/ml。

参考文献：

- Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, et al. Anal Biochem. 1985. 150(1):76-85.

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本方法测定蛋白浓度的物质(例如DTT、巯基乙醇、TCEP等还原剂)，可稀释样品或对样品进行适当纯化后再进行蛋白浓度检测，详细的兼容性列表请参考产品简介部分各种物质的兼容性表格。

2. 是否每次测定时都需要制作标准曲线？

建议每次测定时都制作标准曲线。因为本方法测定时显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也有关，所以除非精确控制显色反应的时间和温度，否则如需精确测定蛋白浓度宜每次都制作标准曲线。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P0006	Bradford蛋白浓度测定试剂盒	1000次
P0006C	Bradford蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型)	800次
P0007	蛋白标准(5mg/ml BSA)	1ml
P0009/P0010	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	200/500/5000次
P0011/P0012	BCA蛋白浓度测定试剂盒	200/500/5000次
P0398	BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒	200/1000/5000次
P0399	BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度)	200/1000/5000次

Version 2024.08.23