

BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度)

产品编号	产品名称	包装
P0399S	BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度)	200次
P0399M	BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度)	1000次
P0399L	BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度)	5000次

产品简介:

- 碧云天研发生产的BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度), 即BeyoBCA Protein Assay Kit (High Sensitivity), 也称BeyoBCA蛋白浓度检测试剂盒(高灵敏度) (BeyoBCA Protein Assay Kit with High Sensitivity)或BeyoBCA Plus蛋白定量试剂盒 (BeyoBCA Plus Protein Assay Kit), 是一种仅需室温孵育15分钟, 就可以进行下限低至2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的高灵敏的蛋白浓度检测的试剂盒。本试剂盒在不需进行超高灵敏度检测时候, 仅需室温孵育5分钟, 就可以完成蛋白浓度的检测。
- 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, 仅需室温孵育约15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4-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的超宽浓度检测范围。**本试剂盒的检测上限与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)接近, 但检测下限可低至10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下, 极大的拓宽了低浓度范围的检测能力。
- **本试剂盒检测灵敏度极高, 样品用量少。**本试剂盒检测样品体积为1-20 μl , 可节约样品用量。室温孵育15分钟的优先推荐条件下, 检测浓度下限达到2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 最小检测蛋白量低至0.04 μg ; 延长室温孵育时间的情况下, 检测下限还可进一步降低。
- **本试剂盒检测速度快, 孵育条件简便。**标准检测条件下, 仅需在室温孵育15分钟即可进行吸光度测定。
- **本试剂盒在4-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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15分钟该标准检测条件下的标准曲线; 图1B为室温孵育15、30和60分钟的较低浓度的标准曲线比较; 图1C为蛋白浓度在2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以内的室温孵育5分钟的标准曲线, 可参考进行快速检测。孵育时间可以根据检测需要灵活调整, 更长的孵育时间可以在一定程度上提升检测灵敏度。

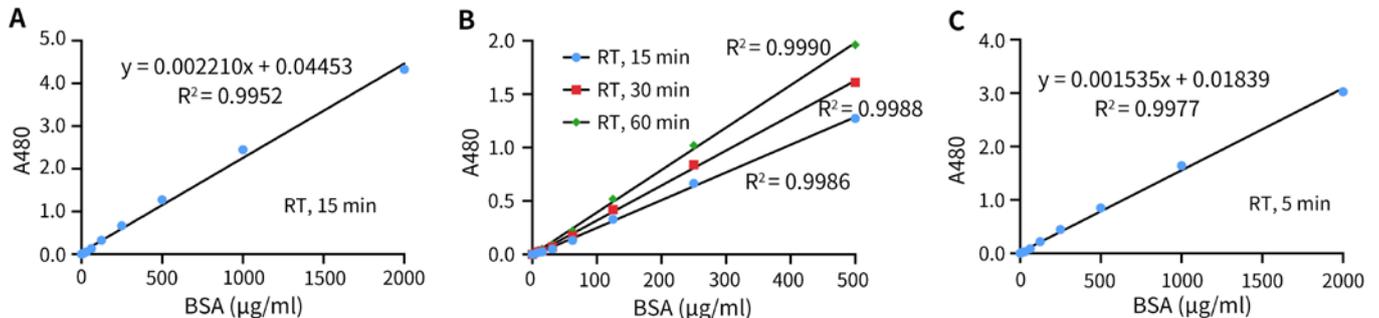


图1. 碧云天BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度) (P0399)检测BSA标准曲线的效果图。图A为本试剂盒优先推荐的室温孵育15分钟该标准检测条件下的BSA标准曲线检测效果图。图B为室温孵育15、30和60分钟的标准曲线对比。图C为室温孵育5分钟的标准曲线, 同样具有很好的蛋白浓度检测效果, 但检测灵敏度会略差于孵育15分钟时的效果。图中数据仅供参考, 实际的检测效果可能会略有不同。

- **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)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。使用碧云天的P0013C裂解的样品, 样品体积不能超过10 μl 。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, 作为样品空白用于背景扣除(参考使用说明书的步骤3d), 也可以尝试进行蛋白浓度检测。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	1%
Tween 20	0.5%
Urea	1M

- 如果待检测样品浓度偏高，推荐使用BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒(P0398)，该试剂盒具有0.04-10mg/ml的超宽浓度检测范围，能更好兼容高浓度蛋白样品，很多常见情况下可以免稀释，室温孵育5分钟后就能进行吸光度检测。
- 本试剂盒和BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒(P0398)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本试剂盒，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	40-10,000µg/ml	4-2000µg/ml	50-2000µg/ml	20-1000µg/ml
检测浓度下限	20µg/ml	2µg/ml	25µg/ml	10µg/ml
待测样品体积	1-10µl	1-20µl	1-20µl	1-20µl
EDTA兼容性	≤5mM	≤5mM	≤10mM	≤10mM
还原剂兼容性	No	No	DTT≤1mM、β-巯基乙醇≤0.01%	DTT≤1mM、β-巯基乙醇≤0.01%
去垢剂兼容性	Tween 20≤0.5%、 Triton X-100≤5%、SDS≤1%	Tween 20≤0.5%、 Triton X-100≤1%、SDS≤1%	Tween 20≤5%、Triton X-100≤5%、SDS≤5%	Tween 20≤5%、Triton X-100≤5%、SDS≤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°C	37°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
P0399S-1	BeyoBCA Plus Reagent A	18ml
P0399S-2	BeyoBCA Plus Reagent B	17.5ml
P0399S-3	BeyoBCA Plus Reagent C	0.8ml
P0399S-4	Protein Standard (BSA)	20mg
P0399S-5	BSA Preparation Solution	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0399M-1	BeyoBCA Plus Reagent A	90ml
P0399M-2	BeyoBCA Plus Reagent B	87ml
P0399M-3	BeyoBCA Plus Reagent C	4ml

P0399M-4	Protein Standard (BSA)	30mg
P0399M-5	BSA Preparation Solution	1.5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0399L-1	BeyoBCA Plus Reagent A	450ml
P0399L-2	BeyoBCA Plus Reagent B	435ml
P0399L-3	BeyoBCA Plus Reagent C	20ml
P0399L-4	Protein Standard (BSA)	30mg×2
P0399L-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 Plus Reagent B须避光保存；Protein Standard (BSA)配制成溶液后-20°C冻存。

注意事项：

- 通常推荐室温孵育15分钟条件下进行蛋白浓度检测。当蛋白浓度过低时，推荐延长孵育时间，例如孵育30分钟或更长时间。蛋白浓度不是非常低时，推荐室温孵育5分钟。不推荐在37°C下进行孵育，温度升高会影响背景吸光度，从而使检测灵敏度降低。
- BeyoBCA Plus 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的二巯苏糖醇(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巯苏糖醇(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，充分溶解后配制成为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2mg/ml。例如取80μl 25mg/ml Protein Standard (BSA)，加入920μl稀释液即可配制成为2mg/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500μg/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、7.8125、15.625、31.25、62.5、125、250、500、1000、2000μg/ml Protein Standard (BSA)。每次稀释时注意充分混匀。实际检测时可以根据检测经验，针对特定类型样品自行确定适当浓度范围的标准曲线。

Vial Number	Volume of Dilution Buffer	Volume of Protein Standard	Final Concentration
A	0μl	150μl Protein Standard (BSA) (2000μg/ml)	2000μg/ml
B	75μl	75μl of Vial A	1000μg/ml
C	75μl	75μl of Vial B	500μg/ml
D	75μl	75μl of Vial C	250μg/ml
E	75μl	75μl of Vial D	125μg/ml
F	75μl	75μl of Vial E	62.5μg/ml
G	75μl	75μl of Vial F	31.25μg/ml
H	75μl	75μl of Vial G	15.625μg/ml
I	75μl	75μl of Vial H	7.8125μg/ml

J	75μl	0μl	0μg/ml
---	------	-----	--------

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

每个反应需180μl BeyoBCA Plus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 Plus工作液，充分混匀。具体配制方法参考下表。BeyoBCA Plus工作液室温30分钟内稳定。

Samples	1	10	20	50
Reagent A (μl)	90	900	1800	4500
Reagent B (μl)	86.4	864	1728	4320
Reagent C (μl)	3.6	36	72	180
BeyoBCA Plus Working Solution	180	1800	3600	9000

3. 蛋白浓度测定。

- 取20μl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20μl，加标准品稀释液补足到20μl。样品原体积记录为V μl。
- 各孔加入180μl BeyoBCA Plus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15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：如果在室温放置15分钟后样品没有充分显色，孵育时间可适当延长，可至30-60分钟甚至更长时间。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，因此应控制在室温孵育，并注意孵育时间。不同孵育时间的标准曲线请参考图1。

- 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0μg/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 (μg/ml)。如果加入样品为20μl，则样品孔的蛋白浓度B即为样品浓度；如果加入样品不足20μl，原体积记录为V μl，则样品浓度C (μg/ml)=B×20 / V。
- 计算示例：

样品原体积V=14μl，加入样品孔中后再加6μl稀释液补足至20μl。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 $y = 0.002210x + 0.04453$ 。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 (μg/ml)=362μg/ml，则样品中的蛋白浓度为C (μg/ml)=362×20/14=517μg/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 2024.08.29