

# Ultra-Fast 5-Min BCA Protein Assay Kits

5 min 极速显色，即用标准品免稀释，线性检测范围 20~2000 µg/mL

产品货号：P30008

产品规格：500 T

储运条件：BSA Standard -20 °C保存，其他组分 4 °C保存；冰袋运输

## 产品简介：

Ultra-Fast 5-Min BCA Protein Assay Kits是一款基于创新螯合技术的高效蛋白质浓度检测工具，解决了传统BCA法检测耗时较长的痛点，实现蛋白质定量的高效与精准升级。其核心原理与传统BCA法同源：在碱性条件下，蛋白质肽键与铜离子( $\text{Cu}^{2+}$ )络合并将其还原为亚铜离子( $\text{Cu}^{+}$ )；但本试剂盒采用全新特异性螯合剂替代传统BCA试剂，可在室温下快速捕获 $\text{Cu}^{+}$ ，以 1:2 摩尔比形成稳定的橙黄色水溶性复合物，该复合物在 480 nm波长处吸光性强，颜色深浅与蛋白质浓度呈严格线性正相关，通过吸光度即可精准定量。相较于传统BCA试剂盒，其核心优势在于超快速检测，整个反应过程仅需 5 min即可完成，较传统方法大幅缩短检测时间，同时配套即用型系列浓度标准品，无需额外稀释，直接绘制标准曲线，进一步简化操作流程，提升实验效率。

蛋白质浓度定量是生命科学研究、生物制药开发及临床检测中的基础且关键步骤，传统检测方法或因反应速度慢影响实验进度，或因稳定性不足导致结果偏差。本试剂盒为各领域蛋白质定量需求提供了高效解决方案，其快速、精准、便捷的性能，能帮助用户在保障数据准确性的同时，显著提升实验效率，为各类蛋白质相关研究与应用奠定坚实基础。

注：效能等同雅酶Omni-Rapid™ 快速蛋白定量试剂盒

注：本文中 Omni-Rapid™ 为雅酶生物的商标及注册商标。

**应用范围：**蛋白定量；生物制药中重组蛋白表达过程监测及制剂蛋白含量质控；临床体液样本总蛋白定量；适配多种常规/复杂样本类型的蛋白浓度精准测定等

## 产品特点：

- **极速显色：**室温 5 min 极速显色，检测效率高，显著提升实验效率，适配高通量样本检测需求；
- **极简操作：**配套即用型 BSA 标准品，无需额外稀释，直接加样即可绘制标准曲线，简化实验流程；
- **精准可靠：**数据重复性与准确性双高，确保蛋白定量结果精准，为实验分析提供可靠依据；
- **宽域灵敏检测：**线性范围 20~2000 µg/mL，满足不同浓度样本的定量需求。

## 产品组分：

| 组分                           | 500 T    |
|------------------------------|----------|
| A. Reagent A                 | 100 mL   |
| B. Reagent B                 | 1.5 mL×2 |
| C. BSA Standard①(2000 µg/mL) | 1 mL     |
| D. BSA Standard②(1500 µg/mL) | 1 mL     |
| E. BSA Standard③(1000 µg/mL) | 1 mL     |
| F. BSA Standard④(750 µg/mL)  | 1 mL     |
| G. BSA Standard⑤(500 µg/mL)  | 1 mL     |



|                             |      |
|-----------------------------|------|
| H. BSA Standard⑥(250 µg/mL) | 1 mL |
| I. BSA Standard⑦(125 µg/mL) | 1 mL |
| J. BSA Standard⑧(0 µg/mL)   | 1 mL |

注：按照每次加 200 µL 工作液计算。

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。

### 注意事项：

- 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。
- 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(Standard)和待测样品均建议测定≥2个平行反应（至少复孔），以提高测量的准确性。
- 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读数范围。
- 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。
- 当组分B(Reagent B)加入组分A(Reagent 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。
- 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Standard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。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

### 使用说明：

以微孔板酶标仪检测为例

#### 一、实验前准备

##### 仪器准备：

能够设置检测波长为 480 nm 的酶标仪。

#### 二、操作步骤

##### 1. BCA 工作液配制

###### (1) 计算所需的工作液总体积

BCA 工作液总量=（BSA 标准品(BSA Standard)样本个数+待测样本个数×稀释梯度数）×复孔数×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(BSA Standard)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(BSA Standard)+3 待测样本×3+多制备 1）×2×200=7.2 mL。

###### (2) 配制成 BCA 工作液

根据计算出的 BCA 工作液的体积将组分 A 与组分 B 按照 50：1 的体积比，配制成 BCA 工作液，并充分混匀。例如：在 7.5 mL 组分 A 中加入 150 µL 组分 B。

表 1.标准曲线检测

| 组分                        | 复孔 1  | 复孔 2    | 复孔 3    |
|---------------------------|-------|---------|---------|
| BSA Standard①(2000 µg/mL) | 20 µL | 20 µL×2 | 20 µL×3 |
| BSA Standard②(1500 µg/mL) | 20 µL | 20 µL×2 | 20 µL×3 |
| BSA Standard③(1000 µg/mL) | 20 µL | 20 µL×2 | 20 µL×3 |
| BSA Standard④(750 µg/mL)  | 20 µL | 20 µL×2 | 20 µL×3 |



|                          |         |         |         |
|--------------------------|---------|---------|---------|
| BSA Standard⑤(500 µg/mL) | 20 µL   | 20 µL×2 | 20 µL×3 |
| BSA Standard⑥(250 µg/mL) | 20 µL   | 20 µL×2 | 20 µL×3 |
| BSA Standard⑦(125 µg/mL) | 20 µL   | 20 µL×2 | 20 µL×3 |
| BSA Standard⑧(0 µg/mL)   | 20 µL   | 20 µL×2 | 20 µL×3 |
| Reagent A                | 1.6 mL  | 3.2 mL  | 4.8 mL  |
| Reagent B                | 32 µL   | 64 µL   | 96 µL   |
| BCA Working Buffer       | ~1.6 mL | ~3.2 mL | ~4.9 mL |

表 2.蛋白样品检测

| 组分                 | 1 个样本   | 3 个样本   | 8 个样本   |
|--------------------|---------|---------|---------|
| 复孔×2               | 20 µL×2 | 20 µL×2 | 20 µL×2 |
| Reagent A          | 400 µL  | 1200 µL | 3.2 mL  |
| Reagent B          | 8 µL    | 24 µL   | 64 µL   |
| BCA Working Buffer | ~400 µL | ~1.2 mL | ~3.2 mL |

注：

- (1) 当组分B加入组分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。
- (2) 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 h内使用，不会影响定量检测的准确性。
- (3) 建议配制BCA工作液时，多配制 1~2 个孔的使用量。如果您的细胞含有有机阴离子转运蛋白，则可以将丙磺舒(1~2 mM)添加到染料工作溶液中（最终浓度为 0.5~1 mM），以减少脱酯指示剂的泄漏。

## 2. 定量检测

- (1) 取 BSA 标准品(BSA Standard)①~⑧各 20 µL，加入 96 孔透明板中，做复孔。
- (2) 若不确定待测样品浓度是否在线性范围内，则使用 1× 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 µL 加入 96 孔板中。
- (3) 在每个孔中加入 200 µL 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 µL 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(Standard)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。

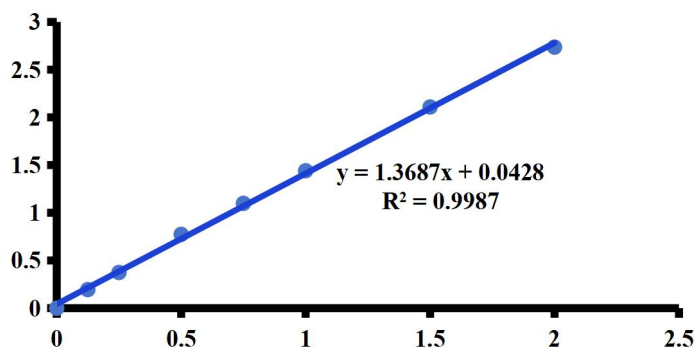


图 1.BSA 标准蛋白标准曲线图



### 三、结果判读：

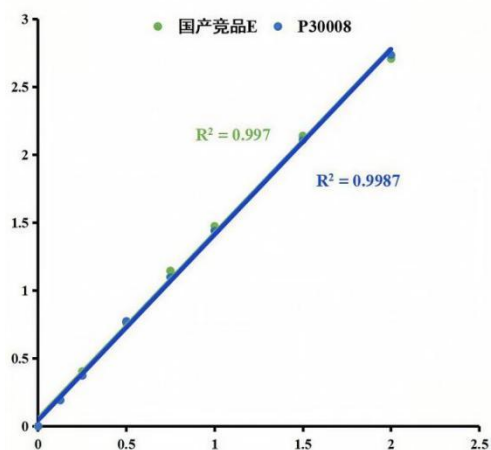


图 2.P30008 与国产竞品 E 线性对比图

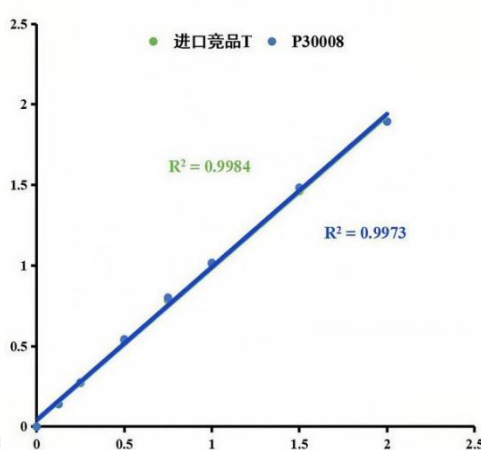


图 3.P30008 与进口竞品 T 线性对比图

- 我司BCA试剂盒在与进口、国产竞品的线性对比中，均展现出优异的线性性能，能确保在蛋白定量过程中，浓度与吸光度间的线性关联稳定且精准，为科研及实验工作中准确的蛋白浓度测定提供有力保障。

附表：干扰物质附表

表 3.干扰物质附表

| 化合物                                       | 耐受浓度      | 化合物                                   | 耐受浓度   |
|-------------------------------------------|-----------|---------------------------------------|--------|
| 盐/缓冲液                                     |           | 去垢剂                                   |        |
| ACES,pH7.8                                | 25 mM     | Brij-35                               | 5.00%  |
| Bicine,pH8.4                              | 20 mM     | Brij-58                               | 1.00%  |
| Borate                                    | 50 mM     | Na Deoxycholate(DOC)                  | 5.00%  |
| Calcium chloride in TBS,pH7.2             | 10 mM     | Octyl $\beta$ -glucoside              | 5.00%  |
| Na-Carbonate/Na2Bicarbonate,pH9.4         | 0.1 M     | Span-20                               | 0.50%  |
| Cesium bicarbonate                        | 100 mM    | Triton-X-100                          | 5.00%  |
| CHES,pH9.0                                | 100 mM    | Triton X-114,riton-X-505,Triton-X-405 | 1.00%  |
| Na-Citrate                                | 75 mM     | Tween-20,Tween-60,Tween-80            | 5.00%  |
| MOPS,pH7.2                                | 100 mM    | CHAPS                                 | 5.00%  |
| Cobalt chloride in TBS,pH7.2              | 0.8 mM    | CHAPSO                                | 5.00%  |
| EPPS,pH8.0                                | 100 mM    | Zwittergent 3-14                      | 1.00%  |
| Ferric chloride in TBS,pH7.2              | 10 mM     | 螯合剂                                   |        |
| Glycine + HCl,pH2.8                       | 100 mM    | EDTA                                  | 10 mM  |
| Ammonium sulfate                          | Ø         | Sodium citrate                        | 200 mM |
| Guanidine • HCl                           | 4 M       | 还原剂                                   |        |
| HEPES,pH7.5                               | 100 mM    | 2-mercaptoethanol                     | Ø      |
| Imidazole,pH7.0                           | 12.5 mM   | Dithiothreitol(DTT)                   | Ø      |
| MES,pH6.1                                 | 100 mM    | N-acetylglucosamine in PBS,pH7.2      | 10 mM  |
| MES (0.1M),NaCl(0.9%),pH4.7               | Undiluted | 糖类                                    |        |
| Nickel chloride in TBS,pH7.2              | 10 mM     | Glucose                               | 10 mM  |
| PBS,Phosphate (0.1 M),NaCl (0.15 M),pH7.2 | Undiluted | 其它                                    |        |
| PIPES,pH6.8                               | 100 mM    | Acetone                               | 10%    |
|                                           |           | Acetonitrile                          | 10%    |



| 化合物                                                                       | 耐受浓度           | 化合物               | 耐受浓度    |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------|---------|
| RIPA lysis buffer:50 mM Tris,150 mM NaCl,0.5% DOC,1% NP-40,0.1% SDS,pH8.0 | Undiluted      | Apratinin         | 10 mg/L |
|                                                                           |                | DMF               | 10%     |
|                                                                           |                | DMSO              | 10%     |
| Sodium acetate,pH4.8                                                      | 200 mM         | Ethanol           | 10%     |
| Sodium azide                                                              | 0.20%          | Glycerol(fresh)   | 10%     |
| Sodium bicarbonate                                                        | 100 mM         | Hydrochloric acid | 100 mM  |
| Sodium chloride                                                           | 1 M            | Leupeptin         | 10 mg/L |
| Sodium citrate,pH4.8 or pH6.4                                             | 200 mM         | Methanol          | 10%     |
| Sodium phosphate                                                          | 100 mM         | N/A               |         |
| Tricine,pH8.0                                                             | 25 mM          |                   |         |
| Triethanolamine,pH7.8                                                     | 25 mM          |                   |         |
| Tris                                                                      | 250 mM         |                   |         |
| TBS,Tris(25 mM),NaCl(0.15 M),pH7.6                                        | Undiluted      |                   |         |
| Tris(25 mM),Glycine(192 mM),pH8.0                                         | 1 : 2 dilution |                   |         |

### 常见疑问与解答:

- 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 min 内也会显示出差异。

- 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。

- 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到预期显著程度？

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。

- 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。

