

BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法)

产品编号	产品名称	包装
P0397S	BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法)	100次
P0397M	BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法)	500次

产品简介:

- 碧云天研发生产的BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法), 即BeyoBCA Peptide Quantitation Assay Kit (Colorimetric), 也称BeyoBCA多肽浓度检测试剂盒(显色法)或BeyoBCA定量比色多肽检测试剂盒, 是一种根据目前世界上最常用的两种蛋白浓度检测方法之一BCA法[1]改良研制而成的多肽定量检测试剂盒。本试剂盒提供改进的BeyoBCA试剂以及特殊的螯合剂, 并提供高质量的多肽标准品, 实现了多肽浓度测定的简单、高稳定性、高灵敏度和高兼容性, 以便于用于后续的定位或LC、MS和LC/MS、多肽纯化后回收率的检测等应用。
- 本试剂盒与Thermo公司的Pierce Quantitative Colorimetric Peptide Assay (23275)检测原理和检测方法基本一致。
- **本试剂盒适用于多肽浓度的检测, 灵敏度高。**碧云天的BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0012)以及BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(P0010), 适用于检测未经消化的蛋白; 而本试剂盒则适用于检测消化完全的多肽。和使用BCA蛋白浓度测定试剂盒进行多肽检测相比, 本试剂盒灵敏度提高两倍以上, 检测浓度下限达到5μg/ml, 最小检测多肽量达到0.1μg, 待测样品体积为1-20μl。
- **本试剂盒检测速度快, 通常孵育15分钟即可进行吸光度测定。**
- **本试剂盒在0-1000μg/ml浓度范围内有较好的线性关系。**本产品15.625-1000μg/ml的标准曲线请参考图1。

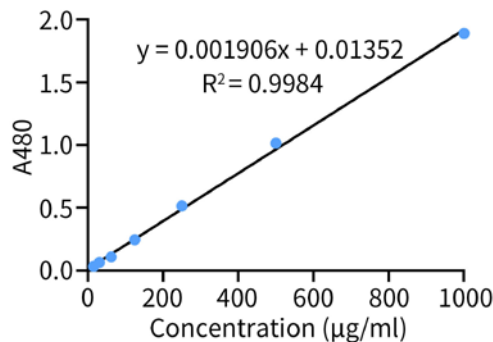


图1. 碧云天BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法) (P0397)多肽标准曲线的实测效果图。图中数据仅供参考, 实际的检测效果可能会由于实验条件的不同而略有不同。

- **本试剂盒化学兼容性好。**使用本试剂盒测定多肽浓度, 不受绝大部分样品中的化学物质的影响, 但受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响, 需确保EDTA低于5mM, 且无二硫苏糖醇(DTT)、三(2-羧乙基)膦酸盐(TCEP)。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。

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%
Urea	1M

- 本试剂盒不推荐用于只含单种氨基酸的多肽定量，多肽的疏水性、长度、结构以及特定的氨基酸含量都可能会影响最终的结果。如果不适用，或者待检测样品总量有限或浓度较低，推荐使用荧光法的多肽浓度测定试剂盒(P0396)，荧光法相比于显色法的灵敏度更高，检测浓度下限达2μg/ml，最小检测多肽量低至0.02μg，待测样品体积仅需1-10μl。显色法和荧光法的多肽浓度测定试剂盒的主要特点和差异请参考下表。

产品编号	P0396	P0397
产品名称	多肽浓度测定试剂盒(荧光法)	BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法)
检测方法	荧光法	显色法
检测下限	0.02μg	0.1μg
待测样品体积	1-10μl	1-20μl
样品种类	多肽，不兼容胺反应性标记试剂，可用于只含单种氨基酸的多肽	多肽，兼容胺反应性标记试剂，不推荐只含单种氨基酸的多肽
EDTA兼容性	>5mM	<5mM
还原剂兼容性	<10mM (DTT、TCEP)	No
检测时间	5分钟	15分钟

- 本试剂盒小包装可检测100个样品，中包装可检测500个样品。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P0397S-1	BeyoBCA Reagent A	10ml
P0397S-2	BeyoBCA Reagent B	10ml
P0397S-3	BeyoBCA Reagent C	0.4ml
P0397S-4	Peptide Standard (1mg/ml)	0.3ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0397M-1	BeyoBCA Reagent A	50ml
P0397M-2	BeyoBCA Reagent B	50ml
P0397M-3	BeyoBCA Reagent C	2ml
P0397M-4	Peptide Standard (1mg/ml)	1.5ml
—	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。Peptide Standard (1mg/ml)启用后，宜-20°C保存。

注意事项：

- 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多肽浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
- 如果样品中含有大量未消化的蛋白质、样品稀释液或裂解液本身就有较高背景、样品中EDTA浓度高于5mM或含有二巯苏糖醇(DTT)、三(2-羧乙基)膦酸盐(TCEP)等还原剂时，推荐使用碧云天多肽浓度测定试剂盒(荧光法)(P0396)。
- 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. 多肽标准品的准备。

a. 多肽样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，如果多肽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。Peptide Standard (1mg/ml)请完全融化并混匀后使用。

注：稀释液不能是强酸或强碱性的溶液。

b. 按照下表配制0、15.625、31.25、62.5、125、250、500、1000μg/ml多肽标准。每次稀释时注意充分混匀。

Vial Number	Volume of Dilution Buffer	Volume of Peptide Standard	Final Concentration
A	0μl	150μl Peptide Standard (1mg/ml)	1000μg/ml
B	75μl	75μl of Vial A	500μg/ml

C	75µl	75µl of Vial B	250µg/ml
D	75µl	75µl of Vial C	125µg/ml
E	75µl	75µl of Vial D	62.5µg/ml
F	75µl	75µl of Vial E	31.25µg/ml
G	75µl	75µl of Vial F	15.625µg/ml
H	75µl	0µl	0µg/ml

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

每个反应需180µl的BeyoBCA工作液，根据待检测样品(包括标准品)的数量，参考下表按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。BeyoBCA工作液室温30分钟内稳定。

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

3. 多肽浓度检测。

- 取20µl不同浓度多肽标准品(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，加稀释液补足到20µl。样品原体积记录为Vµl。
- 各孔加入180µl工作液，使用微孔板振荡器混匀1分钟，37°C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37°C放置15分钟内没有充分显色，孵育时间可适当延长。也可以室温放置30分钟。本方法测定多肽浓度时，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。如果浓度较低，适合在较高温度孵育，或适当延长孵育时间。

- 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多肽浓度B (µg/ml)。如果加入样品为20µl，则样品孔的多肽浓度B即样品浓度；如果加入样品不足20µl，原体积记录为Vµl，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 $y=0.001906x+0.01352$ 。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即样品孔的多肽浓度B (µg/ml)=436µg/ml，则样品中的多肽浓度为C (µg/ml)=436×20/14=623µg/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多肽浓度的物质，可稀释样品或对样品进行适当纯化，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做标准曲线？

建议每次测定时都做标准曲线。因为本方法测定时颜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，否则如需精确测定宜每次都做标准曲线。

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
P0396	多肽浓度测定试剂盒(荧光法)	100/500次
P0397	BeyoBCA多肽浓度测定试剂盒(显色法)	100/500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