

# BCA 蛋白浓度测定试剂盒

200T/1000T

RT

## 产品简介:

本公司生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒是根据目前广泛应用的蛋白浓度检测方法之一 BCA 法研制而成。其操作简单，灵敏度高，所形成的颜色复合物稳定性佳，受干扰物质影响小。可检测浓度下限达 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的蛋白样品，最小检测蛋白量达到 0.5  $\mu\text{g}$ ，待测样品体积为 1-20  $\mu\text{L}$ 。本产品主要成分为：BCA 二钠盐，无水碳酸钠，酒石酸钾，氢氧化钠，碳酸氢钠和硫酸铜。

## 包装内容:

产品货号	产品名称	规格
G2026-1	BCA 试剂	40 mL/100 mL $\times$ 2
G2026-2	硫酸铜溶液	1.2 mL/1.2 mL $\times$ 5
G2026-3	蛋白标准品 (BSA) (4 $^{\circ}\text{C}$ )	25 mg/25 mg $\times$ 5
G2026-4	蛋白标准配制液	1.5 mL/1.5 mL $\times$ 5

## 保存条件:

蛋白标准品 4 $^{\circ}\text{C}$  保存，溶解后应放 -20 $^{\circ}\text{C}$  保存。其余试剂常温保存。有效期 12 个月。

## 使用方法:

1. 取 1 mL 蛋白标准配置液加入到 25 mgBSA 的蛋白标准管中，完全溶解蛋白标准品，即为 25 mg/mL 的蛋白标准溶液。配制成的蛋白标准溶液可 -20 $^{\circ}\text{C}$  长期保存。
2. 取适量 25 mg/mL 蛋白标准溶液，稀释至终浓度为 0.5 mg/mL。标准品最好与蛋白样品用同样的溶液稀释。但为了简便起见，通常使用 0.9% NaCl 或 PBS 稀释标准品。
3. 做标准曲线。将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 $\mu\text{L}$  加到 96 孔板中，不足 20  $\mu\text{L}$  的加标准品稀释液补足到 20  $\mu\text{L}$ 。

## BCA 蛋白浓度测定试剂盒

200T/1000T

RT

4. 将待测的蛋白样品稀释至合适浓度，加到 96 孔板中，使待测样品总体积也为 20  $\mu\text{L}$ 。
5. 根据样品数量，按 50 体积 BCA 试剂加 1 体积硫酸铜溶液（50：1）配制适量 BCA 工作液，充分混匀。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。
6. 每孔加入 BCA 工作液 200  $\mu\text{L}$ ，充分混匀（可将酶标板放在振荡器上振荡 30s），37 $^{\circ}\text{C}$  放置 30 min 后，以标准曲线 0 号做参比，在 562nm 波长下比色测定，记录各孔吸光度值。（注：也可以在室温放置 2 h，或 60 $^{\circ}\text{C}$  放置 30 min。如果蛋白浓度较低，最好放在 60 $^{\circ}\text{C}$  条件下反应。）
7. 以标准品蛋白含量（ $\mu\text{g}$ ）为横坐标，吸光值为纵坐标，绘出标准曲线。根据所测样品的吸光值，在标准曲线上即可查得相应的蛋白含量（ $\mu\text{g}$ ），除以样品稀释液总体积（20  $\mu\text{L}$ ），乘以样品稀释倍数即为样品实际浓度。

### 注意事项：

1. BCA法测定蛋白浓度受温度和时间的影响较大，吸光度值会随着时间的延长不断升高，且显色反应会因温度的升高而加快。如果不能精确控制显色反应的时间和温度，建议每次测定都需要做标准曲线。
2. 本试剂也适用与分光光度计测定，但需要根据测定的最小体积调整样品和 BCA工作液的用量。
3. 为保证蛋白的精确定量，样品的提取和标准蛋白的配制最好选用相同的缓冲液，同时也要保证两者检测条件的一致性。如果缓冲液本身就有较高的背景值，建议使用其他的方法测定。
4. BCA法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响，可以兼容样品中高达5%的SDS，5%的Triton X-100，5%的Tween 20，Tween 60，Tween 80。但在样品含有脂类物质时将明显提高吸光度值。且受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保EDTA低于10mM，无EGTA，二硫苏糖醇或 $\beta$ -巯基乙醇低于1mM。不适用BCA法时建议使用其他方法测定。