

## BCA蛋白定量试剂盒

**保存条件：**室温，BSA稀释后2-8℃保存。支持常温运输。整体长期保存推荐2-8℃。

**规格：**500 microplate assays

### 主要组成成分

产品编号	组分	体积
1	BCA-A	2*50ml
2	BCA-B	3ml
3	BSA	4mg (用时加2ml 1×PBS或0.9%生理盐水进行稀释, 2-8℃保存)

### 产品简介

BCA蛋白定量法是目前广泛使用的蛋白定量方法之一。本产品是基于BCA (Bicin-chonic Acid) 法研制而成, 实现了对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。其原理是在碱性环境下蛋白质分子中的肽链结构能与Cu<sup>2+</sup>络合生成络合物, 同时将Cu<sup>2+</sup>还原成Cu<sup>+</sup>。BCA试剂可敏感特异地与Cu<sup>+</sup>结合, 形成稳定的有颜色的复合物。在562 nm处有高的光吸收值, 颜色的深浅与蛋白质浓度成正比, 可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量。本试剂盒含有牛血清白蛋白 (BSA) 溶液作为蛋白质标准品溶液, 测定范围为20~2000 μg/ml。

### 注意事项

1. 本产品可以采用分光光度计 (试管检测法) 或者酶标仪 (微孔检测法) 测定蛋白浓度。
2. 建议每次测定蛋白样品时, 绘制标准曲线, 以获得准确数据。
3. BSA标准品的稀释液需与待测样品的稀释液一致 (可用1×PBS或0.9%生理盐水稀释)。
4. 如待测样品中含较多的干扰物质 (具体见附表1), 可采用Bradford法蛋白定量试剂盒 (本公司生产) 或其他蛋白定量产品。

### 操作步骤

1. 稀释BSA标准品: 用与待测蛋白样品相一致的稀释液按下表稀释BSA标准品。

管号	稀释液用量 (μl)	BSA标准品用量 (μl)	BSA标准品最终浓度 (μg/μl)
A	0	100	2
B	200	200	1
C	200	200 (从B管中取)	0.5
D	200	200 (从C管中取)	0.25
E	200	200 (从D管中取)	0.125
F	200	200 (从E管中取)	0.0625
G	200	0	0 (空白)

2. 配置BCA工作液:

1) 计算BCA工作液总量:

BCA工作液总量 = (BSA标准品样本个数 + 未知样本个数) × 复孔数 × 每个样本BCA工作液体积

举例: BSA标准品样本个数为7个, 未知样本个数2个, 复孔数3个。

试管检测法:

BCA工作液总量 = (7个BSA标准品样本 + 2个未知样本) × 3个复孔 × 2 ml / 每个样本工作液体积 = 54 ml

微孔检测法:

积极倾听客户需求, 构筑优质的产品和服务

BCA工作液总量=(7个BSA标准品样本+2个未知样本)×3个复孔×200 μl/每个样本工作液体积=5.4ml

2) 根据计算出的BCA工作液需要总量, 将BCA-A和BCA-B按照50:1的体积比, 配制BCA工作液, 充分混匀。

**注意:** 1) 由于加样可能存在误差, 建议配制BCA工作液时, 多配制1-2个孔。

2) 新配制的BCA工作液室温密封条件下可稳定保存24小时。

3. 定量检测

3a. 试管检测法 (蛋白浓度检测范围: 20-2000 μg/ml)

1) 按上表, 将稀释好的A-G BSA标准品和待测蛋白样品 (原液或稀释液) 各100 μl分别加到作好标记的试管中。推荐每个测定的样本做2-3个平行反应。

2) 向每个试管中各加入2 ml BCA工作液, 充分混匀, 37℃水浴中孵育30分钟, 将各管冷却至室温, 须在3-5分钟内完成检测。

3) 用分光光度计在562 nm处, 测定每个样品及BSA标准品的吸光值, 同时做好记录。

4) 绘制标准曲线, 计算样品中的蛋白浓度。

3b. 微孔检测法 (蛋白浓度检测范围: 20-2000 μg/ml)

1) 按上表, 将稀释好的A-G BSA标准品和待测蛋白样品 (原液或稀释液) 各25 μl分别加到作好标记的96孔板微孔中。推荐每个测定的样本做2-3个平行反应。

2) 每孔加入200 μl BCA工作液, 充分混匀, 盖上96孔板盖, 37℃孵育30分钟, 冷却至室温, 须在3-5分钟内完成检测。

3) 用酶标仪在540-590 nm范围内, 测定每个样品及BSA标准品的吸光值, 同时做好记录。

4) 绘制标准曲线, 计算样品中的蛋白浓度。

**注意:** 1) BCA法测定蛋白浓度时, 吸光值会随着时间的延长不断加深。因此所有样品测定需在3-5

分钟内完成, 否则会影响蛋白定量的准确度。

2) 建议以去除背景值后的吸光值读数绘制标准曲线。

3) 由于操作误差导致标准品读数严重偏离线性曲线的应舍去。

4) 未知样品浓度可以从标准曲线方程中计算得出, 实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。

5) 如果得到的蛋白浓度不在检测范围内, 请重新稀释样品后再次测定。

**附表**

附表1. 干扰物质表

化合物	耐受浓度	化合物	耐受浓度
缓冲液		去垢剂和变性剂	
乙酸盐	0.2M	Brij35	1%
甘氨酸	1M	CHAPS	1%
HEPES	0.1M	盐酸胍	4M
MES	50mM	NP-40	1%
MOPS	50mM	辛葡糖	1%
Na <sup>+</sup> -柠檬酸	<1mM	SDS	1%
PIPES	50mM	Triton X-100	1%
磷酸钠	0.1M	糖类	
乙酸钠	0.2M pH 5.5	葡萄糖	10mM
TES	50mM	蔗糖	1M
Tris	0.1M	螯合剂	
盐类		EDTA	10mM
硫酸铵	干扰	还原剂	
NaCl	1M	$\beta$ -巯基乙醇	50 $\mu$ M
尿素	3M	DTT	1mM
极性化合物		其他	
DMSO	5%	脂类	干扰
甘油	10%	HCl/NaOH	0.1M

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途

北京诺梵生物科技有限公司

 主页：<http://www.novinbio.com/>

电话：400-832-8698