

BCA 蛋白定量试剂盒

BCA Protein Assay Kit

本产品冰袋运输; BSA 标准品 -20°C 保存, 其它组分常温保存, 保质期 12 个月

【货号规格】

货号	品名	规格
WB0311	BCA 蛋白定量试剂盒	500T

【产品内容】

组分名称	规格
试剂 A	100 mL
试剂 B	5 mL
BSA 标准品 (1 mg / mL)	2 × 5 mL

【产品特点】

检测范围广: 灵敏度高, 标准曲线范围 25-1000 $\mu\text{g/mL}$, 检测浓度下限 25 $\mu\text{g/mL}$, 最小检测蛋白量 0.5 μg

兼容性好: 与金属离子、还原剂、螯合剂及去污剂兼容性较好

【产品说明】

BCA (Bicinchoninic Acid) 法是目前广泛应用的蛋白定量方法之一, 本产品基于 BCA 法研制而成, 可对蛋白进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。

其原理是在碱性环境下蛋白质与 Cu^{2+} 络合并将其还原成 Cu^+ , BCA 与 Cu^+ 结合形成稳定的紫色复合物, 在 562nm 处的光吸收值与蛋白浓度成正比, 据此可对蛋白定量。与 Lowry 法相比, BCA 法灵敏度高, 操作简单, 试剂稳定性强, 且受干扰物质影响小。与 Bradford 法相比, BCA 法的显著优点是不受去垢剂的影响。

【操作步骤】

1. BSA 标准品溶液配制

按下表配制 BSA 标准品溶液, 加入到 96 孔板中。每个设置 3 个复孔。

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
BSA 标准品 (μL)	0	0.5	1	2	4	8	16	20
稀释液 (μL)	20	19.5	19	18	16	12	4	0
BSA 终浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	0	25	50	100	200	400	800	1000

注: 上表中用到的稀释液应和待测样本稀释液相同 (可用 PBS 或者生理盐水稀释)。

2. 待测样本稀释：

估计待测样本浓度，做适当稀释（通常细胞样本建议稀释 10 倍，组织样本建议稀释 20 倍），以保证待测样本蛋白含量落入标准曲线范围内。将稀释后的待测样本加 20 μ L 到 96 孔板空白孔中；每个待测样本设置 3 个复孔。

3. 配制显色工作液（试剂 A 和试剂 B 按 50: 1 比例混合所得）：

a. 计算显色工作液用量：

显色工作液用量 = (BSA 标准品样本个数 + 待测样本个数) \times 复孔数 \times 每个样本显色工作液体积

例如：BSA 标准品样本个数为 8 个（见上表），待测样本个数 5 个，复孔均为 3 个。

则显色工作液用量 = (8 个 BSA 标准品样本 + 5 个待测样本) \times 3 个复孔 \times 200 μ L(每个样本工作液体积) = 7.8mL

→ 可以配制 8ml 显色工作液

b. 根据计算所需的显色工作液用量，将试剂 A 和试剂 B 按照 50:1 的体积比，配制显色工作液，充分混匀备用。

4. 定量测定：

a. 在标准品和待测样品孔中各加 200 μ L 显色工作液，充分混匀，盖上 96 孔板盖，37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min，冷却至室温（也可以室温放置 2 h，或 60 $^{\circ}$ C 放置 30 min。BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度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。如果蛋白浓度较低，可在较高温度孵育，或延长孵育时间。）

b. 使用分光光度计或酶标仪测定 562nm 处每个待测样品和 BSA 标准品的吸光值。

（剔除明显错误的吸光值，可用同一块 96 孔板重新加样测量该值）

c. 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度（可借助 excel 绘制标准曲线并计算待测样品蛋白浓度）。

【温馨提示】

1. 本产品可以采用分光光度计或酶标仪测定蛋白浓度。
2. 每次检测待测样品时需重新测量 BSA 标准品绘制标准曲线，以获得更准确数据。
3. 如果得到的蛋白浓度不在标准曲线范围内，请重新稀释样品后再次测定。
4. 本产品仅限于科学研究用，不得用于临床诊断或治疗。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。