

BCA 微量蛋白定量试剂盒说明书

产品货号：34021

产品规格：1000 次

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 (Bicinchoninic 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^{2+} 络合生成络合物，同时将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ 。BCA 试剂可敏感特异地与 Cu^+ 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。本试剂盒专为低蛋白浓度样品的蛋白定量而设计，可精确测定浓度为 0.2–100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的蛋白溶液，试剂盒的灵敏性高，平行性好，不同种蛋白之间的测量差异极低。每个试剂盒可以检测 1000 个样品。

包装清单：

产品名称	包装	储存条件
试剂 A	50ml	4°C
试剂 B	50ml	4°C
试剂 C	5ml	4°C
蛋白标准(BSA) 5mg/ml	1ml	-20°C 保存

操作步骤：

1. 蛋白标准品的准备

取适量 5mg/ml 蛋白标准，用 PBS 稀释至终浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。例如取 10 μl 5mg/ml 蛋白标准，加入 490 μl PBS 即可配制成 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 蛋白标准。蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，也可以用 0.9% NaCl 或 PBS 稀释标准品。稀释后的蛋白标准需 -20°C 长期保存。

2. 工作液配制

根据样品数量，按 1 体积试剂 C 加 25 体积试剂 B，混匀后加 26 体积试剂 A，再次混匀（按照 C-B-A 的顺序加，切勿更改加样顺序）。配制适量 BCA 工作液，充分混匀。

3. 蛋白浓度测定

a. 将标准品按 0、5、10、20、40、60、80、100 μl 加到 96 孔板的标准品孔中，加标准品稀释液补足到 100 μl ，相当于标准品浓度分别为 0、5、10、20、40、60、80、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。标准品浓度可根据实际实验需求更改。

b. 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 100 μl ，需加标准品稀释液补足到 100 μl 。请注意记录样品体积。

c. 各孔加入 100 μl 工作液，60°C 放置 60 分钟。

d. 用酶标仪测定 A562，或 540–595nm 之间的其他波长的吸光度。

e. 根据标准品浓度和 A562 值做出标准曲线，根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779
Q Q：807961520 731791866
邮箱：shsunbao@126.com
http://www.saint-bio.com

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 BCA 法测定蛋白浓度的物质。

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 BCA 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。

注意事项:

需酶标仪一台，测定波长为 540-595nm 之间，562nm 最佳。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 BCA 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蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。

如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，请试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。

EDTA 浓度必须小于 10mM，不兼容 EGTA。不适用 BCA 法时，请试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。

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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

<http://www.saint-bio.com>