

BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书

产品货号：34001

产品规格：100 次/250 次/500 次

产品简介：

BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (BCA Protein Assay Kit) 是根据目前世界上最常用的两种蛋白浓度检测方法之一 BCA 法研制而成，实现了蛋白浓度测定的简单、高稳定性、高灵敏度和高兼容性。灵敏度高，检测浓度下限达到 $25 \mu\text{g/ml}$ ，最小检测蛋白量达到 $0.5 \mu\text{g}$ ，待测样品体积为 $1-20 \mu\text{l}$ 。在 $50-2000 \mu\text{g/ml}$ 浓度范围内有较好的线性关系。

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 Tween20、60、80。但本试剂盒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 (DTT) 低于 1mM ， β -巯基乙醇 (β -Mercaptoethanol) 低于 0.01%。不适用 BCA 法时建议试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。

包装清单：

产品名称	100 次包装	250 次包装	500 次包装	储存条件
BCA 试剂 A	20ml	50ml	100ml	RT
BCA 试剂 B	0.4 ml	1ml	2ml	RT
蛋白标准 (BSA) 5mg/ml	0.4 ml	1ml	2ml	-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 0.5mg/ml 。例如取 $50 \mu\text{l}$ 5mg/ml 蛋白标准，加入 $450 \mu\text{l}$ PBS 即可配制成 0.5mg/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 0.5mg/ml 蛋白标准需 -20°C 长期保存。

2. BCA 工作液配制

根据样品数量，按 50 体积 BCA 试剂 A 加 1 体积 BCA 试剂 B (50:1) 配制适量 BCA 工作液，充分混匀。例如 5ml BCA 试剂 A 加 $100 \mu\text{l}$ BCA 试剂 B，混匀，配制成 5.1ml BCA 工作液。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。

3. 蛋白浓度测定

a. 将标准品按 0、1、2、4、8、12、16、 $20 \mu\text{l}$ 加到 96 孔板的标准品孔中，加标准品稀释液补足到 $20 \mu\text{l}$ ，相当于标准品浓度分别为 0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、 0.5mg/ml 。

b. 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 $20 \mu\text{l}$ ，需加标准品稀释液补足到 $20 \mu\text{l}$ 。请注意记录样品体积。

c. 各孔加入 $200 \mu\text{l}$ BCA 工作液， 37°C 放置 20-30 分钟。

注：也可以室温放置 2 小时，或 60°C 放置 30 分钟。BCA 法测定蛋白浓度时，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。

d. 用酶标仪测定 A562，或 $540-595\text{nm}$ 之间的其他波长的吸光度。

e. 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度。

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。



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

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>