

## BCA蛋白定量试剂盒

产品货号: 26129

产品规格: 250T/500T/2500T

### 产品简介:

目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法是: BCA 法和 Bradford 法。

BCA 法测蛋白的原理是在碱性环境下蛋白质与  $\text{Cu}^{2+}$  络合并将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^{1+}$ 。BCA 与  $\text{Cu}^{1+}$  结合形成稳定的紫蓝色复合物, 在 562nm 处有最大的光吸收值并与蛋白质浓度成正比, 据此可测定蛋白质浓度。BCA 法与传统方法相比, 操作更简单、试剂及其形成的颜色复合物更稳定、灵敏度更高。BCA 法测定蛋白浓度兼容性亦很好, 不受大部分样本中其他成分的影响, 对于 5% 以内的去垢剂如 SDS、Triton X-100、Tween 20、Tween80、NP-40 具有很好的兼容性, 但易受螯合剂、还原剂等的影响, 在测定蛋白浓度前应尽量使样本满足如下要求: EDTA 浓度  $\leq 10\text{mM}$ 、DTT 浓度  $\leq 1\text{mM}$ 、2-ME  $\leq 0.01\%$ 、无 EGTA。

尚宝生物 BCA Protein Assay Kit 在  $50\sim 2000\ \mu\text{g/ml}$  浓度范围内有较好的线性关系。本试剂盒适用于微量蛋白质浓度的测定, 其最小检出量为  $25\ \mu\text{g/ml}$ 。该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

产品名称	250T	500T	2500T	保存条件
试剂(A): BCA 试剂 A	50ml	100ml	500ml	室温
试剂(B): BCA 试剂 B	1.5ml	3ml	15ml	室温
试剂(C): 蛋白标准(BSA)	20mg	20mg	20mg	室温
试剂(D): 蛋白标准配制液	5ml	10ml	10ml	室温

### 自备材料:

1. 蒸馏水、生理盐水或 PBS
2. 酶标仪或分光光度计、EP 管、96 孔板或比色皿、恒温箱或水浴锅

### 操作步骤(仅供参考):

1. 取 1ml 蛋白标准配制液加入到含有 20mg 的蛋白标准(BSA)中, 充分溶解后配制成 20mg/ml 的蛋白标准溶液, 配制后可立即使用, 配制的蛋白标准溶液应  $-20^\circ\text{C}$  保存。
2. 取适量的 20mg/ml 蛋白标准溶液, 稀释至终浓度为  $500\ \mu\text{g/ml}$ , 如取  $25\ \mu\text{l}$  蛋白标准(20mg/ml), 加入  $975\ \mu\text{l}$  稀释液, 充分混匀即配制成  $500\ \mu\text{g/ml}$  蛋白标准溶液。注意: 待测蛋白溶解于什么样的稀释液中, 蛋白标准也宜溶解于同样的溶液中, 一般可用 0.9%NaCl 或 PBS 作为 BSA 的稀释液, 稀释后的  $500\ \mu\text{g/ml}$  蛋白标准溶液也应  $-20^\circ\text{C}$  长期保存。
3. 根据样品数量, 按试剂(A):试剂(B)=50:1 的比例配制 BCA 工作液, 即取 50 份 BCA 试剂 A 和 1 份 BCA 试剂 B, 充分混匀, 即获得 BCA 工作液(注意: 正常 BCA 工作液应为苹果绿或墨绿色, 如变为紫色或其他颜色应弃用); 例如 取 5ml BCA 试剂 A 和 0.1ml BCA 试剂 B, 配制成 5.1ml BCA 工作液, BCA 工作液室温 24 小时内稳定。
4. 将  $500\ \mu\text{g/ml}$  蛋白标准溶液按 0、1、2、4、8、12、16、 $20\ \mu\text{l}$  加到 96 孔板或 EP 管中, 加稀释液补足至  $20\ \mu\text{l}$ , 其蛋白标准浓度依次为 0、25、50、100、200、300、400、 $500\ \mu\text{g/ml}$ 。
5. 加  $20\ \mu\text{l}$  待测蛋白到 96 孔板或 EP 管中, 如果样本不足  $20\ \mu\text{l}$ , 用稀释液补足至  $20\ \mu\text{l}$ 。注意: 如果标准品稀释液与溶解待测蛋白的溶液不同, 应在待测蛋白中加入  $20\ \mu\text{l}$  稀释液; 如果标准品稀释液与溶解待测蛋白的溶液相同, 无需在待测蛋白孔中加入  $20\ \mu\text{l}$  稀释液, 以减少不同溶液的差异。
6. 向各孔或 EP 管加入  $200\ \mu\text{l}$  配制好的 BCA 工作液, 迅速混匀,  $37^\circ\text{C}$  孵育 30~60min。
7. 冷却至室温, 立即用酶标仪或分光光度计测定 562nm 波长处吸光度(如无 562nm,  $540\sim 595\text{nm}$  之间的波长也可), 各孔或 EP 管吸光度减去蛋白浓度为  $0\ \mu\text{g/ml}$  的标准管的吸光度, 以求得的差值为纵坐标: 以标准孔



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

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

或 EP 管中蛋白浓度( $\mu\text{g/ml}$ )为横坐标, 得出标准曲线及回归方程, 根据标准曲线计算出待测样品的蛋白浓度。

**注意事项:**

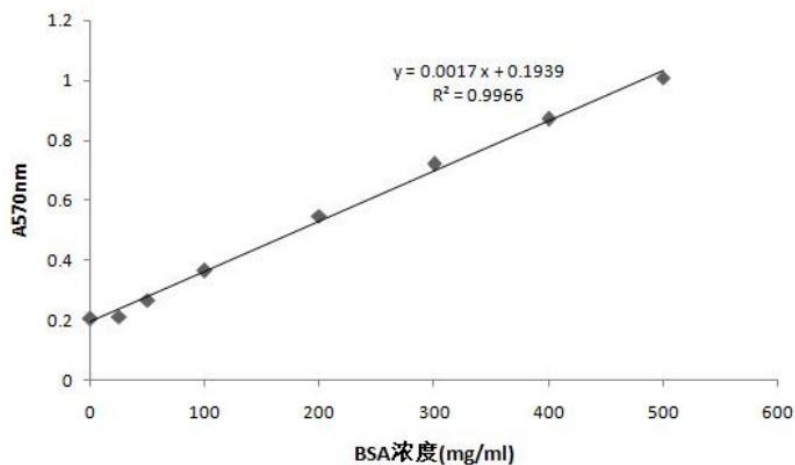
1. 蛋白标准(BSA)粉末溶解于蛋白标准配制液后, 即获得蛋白标准原液(即  $20\text{mg/ml}$  的蛋白标准), 该原液中含有防腐剂, 不影响后续检测, 该蛋白标准原液 $-20^{\circ}\text{C}$ 长期保存。
2. 待测蛋白溶解于什么样的稀释液中, 蛋白标准也宜溶解于同样的溶液中, 否则待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致, 有可能导致测定不准确。
3. 如果检测效果不佳, 可以室温放置 2h 或  $60^{\circ}\text{C}$ 放置 30min, 颜色会随着时间的延长不断加深, 显色反应也会随温度升高而加快; 如果浓度较低, 可以适当延长孵育时间或在较高温度下孵育。
4. 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。
5. 如检测样本中含有较多螯合剂、还原剂等影响因素时可考虑 Bradford 法测定。
6. 因 BCA 法测定时颜色会随着时间的延长不断加深, 建议每次测定时都作标准曲线, 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, 否则每次都做标准曲线。
7. 如果没有酶标仪也可以用普通的分光光度计测定, 但应考虑比色皿的最小测定体积, 按比例适当加大 BCA 工作液的用量使总体积不小于最小检测体积, 样品和标准品的用量亦相应按比例放大; 使用分光光度计测定蛋白浓度时, 可以测定的样品数量会显著减少。
8. 为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当加热, 但切勿过热, 否则易失效。
9. 试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
10. 为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当用微波炉加热, 但是切勿过热。

**有效期:** 12 个月有效。蛋白标准配制成溶液后应 $-20^{\circ}\text{C}$ 冻存。

附录 1: 标准曲线制作: 尚宝生物 在室温条件下按说明书操作, 对系列标准用酶标仪测定  $570\text{nm}$  时的吸光度, 其数值及标准曲线如下(仅供参考):

蛋白标准 ( $\mu\text{g/ml}$ )	0	25	50	100	200	300	400	500
吸光度	0.205	0.211	0.266	0.364	0.547	0.72	0.87	1.009

注意: 对于  $10\sim 50\ \mu\text{g/ml}$  范围内的蛋白样品, 要充分考虑如 EDTA、2-ME、DTT 等干扰因素, 其检测结果波动较大, 标准品亦有波动, 请注意小心精细操作。



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

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com