



BCA蛋白浓度测定试剂盒

(BCA Protein Quantification Kit 500 T)

使用说明书

Instruction Manual

产品编号	产品名称		产品包装
C0050-1	BCA试剂A	BCA Protein Quantification Reagent A	100 mL
C0050-2	BCA试剂B	BCA Protein Quantification Reagent B	3 mL
C0050-3	BSA蛋白标准品	BCA Protein Quantification Bovine Serum Albumin Standard	30 mg
C0050-4	蛋白标准品配制液	BCA Protein Quantification Protein Standard Preparation Solution	1.5 mL
——	说明书		一份

产品描述

BCA (Bicinchoninic acid) 是广泛应用的蛋白浓度测定方法，常用于蛋白提取后的定量检测，具有操作简单、稳定性好、灵敏度高和兼容性高等优势。

BCA 蛋白浓度测定试剂盒的检测原理涉及两步化学反应，第一步基于双缩脲反应，在碱性环境下，蛋白质与二价铜离子络合并将二价铜离子还原为一价铜离子，形成蓝色复合物。第二步是 BCA 与一价铜离子结合形成稳定的蓝紫色复合物，该复合物在 562 nm 处有较高的吸光值，并与蛋白质浓度呈正比。

产品特点

1. 灵敏度高：最小检测蛋白量达到 0.5 μg ，检测浓度下限达到 25 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ，待测样品体积为 1-20 μL 。
2. 线性范围广：在 25-2000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 浓度范围内有较好的线性关系。
3. 操作简单：配置了 BSA 蛋白标准品预稀释液套装，减少操作步骤。正常情况下可在 45 分钟内完成测定，比经典 Lowry 方法速度快四倍。
4. 兼容性好：在绝大部分样品中，BCA 法测定蛋白浓度不受化学物质的影响，可以兼容样品中高达 5% 的 SDS，5% 的 Triton X-100，5% 的 Tween 20、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 10 mM，无 EGTA，DTT 低于 1 mM， β -Mercaptoethanol 低于 0.01%。

操作说明

一、蛋白标准品和待测样品的准备

1. 向一管 30 mg 的 BSA 蛋白标准品中加入 1.2 mL 配制液，充分溶解后配制成 25 mg / mL 的蛋白标准品溶液。配制后储存于 -20°C 。
2. 取适量 25 mg / mL 的蛋白标准品溶液，用蛋白稀释液稀释至终浓度 0.5 mg / mL。可长期储存于 -20°C 。

注：待测蛋白样品的配制液与稀释液宜选择相同的溶液。可以用 0.9 % NaCl 或 PBS 作蛋白稀释液。



 www.targetmol.cn

 400 - 820 - 0310

 support@targetmol.com

3. 将 0.5 mg/mL 的蛋白标准品溶液，按 0、1、2、4、8、12、16、20 μ L 逐一加到 96 孔板的孔中，再分别加蛋白稀释液补足至 20 μ L，这样操作相当于蛋白标准品浓度分别为 0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL。
4. 加适当体积待测样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 20 μ L，需加蛋白稀释液补足到 20 μ L。

二、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 5 mL BCA 试剂 A 加 100 μ L BCA 试剂 B，混匀，配制成 5.1 mL BCA 工作液。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。

三、蛋白浓度测定

1. 各孔加入 200 μ L BCA 工作液，60 $^{\circ}$ C 放置 30 分钟。

注：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。注意保持定时和定温，以确保精确定量。

2. 用酶标仪测定 562 nm 波长的吸光度。
3. 根据 BSA 标准品的吸光度，绘制标准曲线 (X-蛋白浓度 μ g/mL; Y-A562)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

保存条件

试剂盒中的 A、B 液及蛋白标准品配制液室温保存。蛋白标准品 (BSA) 粉末室温保存，配成溶液后可置于 -20 °C 保存一年。

注意事项

1. 本方法适用于 96 孔板使用酶标仪检测。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，适当增加 BCA 工作液、标准品和样品的用量。
2. 低温或长期保存时，若发现试剂 A 或试剂 B 出现沉淀，请进行 37 °C 温育并搅拌使其充分溶解。如发现细菌污染，则应丢弃，避免对实验结果造成影响。
3. 建议每次测定都做相应的标准曲线，因为显色反应受温度和时间变化的影响，为确保蛋白定量的精准性，每次都应制备标准曲线。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究使用，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。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。