



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: 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, 充分溶解后配制成为25 mg/mL的蛋白标准品溶液。配制后储存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 。
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 $^{\circ}\text{C}$ 。
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。
3. 将0.5 mg/mL的蛋白标准品溶液, 按0、1、2、4、8、12、16、20 μL 逐一加到96孔板的孔中, 再分别加蛋白稀释液补足至20 μL , 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。

标准品孔	0.5 mg/mL的蛋白标准品溶液 (μL)	蛋白稀释液 (μL)	蛋白标准品浓度 (mg/mL)
1	0	20	0
2	1	19	0.025
3	2	18	0.05
4	4	16	0.1
5	8	12	0.2
6	12	8	0.3
7	16	4	0.4
8	20	0	0.5

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 μL，需加蛋白稀释液补足到 20 μL。

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 μL 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 μL BCA 工作液，37 °C 放置 30 min。

注：也可以 60 °C 放置 20 min，或者室温放置 2 h。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 ug/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。



 www.targetmol.cn

 400 - 820 - 0310

 sales@targetmol.cn