



BCA 蛋白定量试剂盒

BCA Protein Assay Kit

产品编号: C05-02001

产品规格: 40mL(200T), 100mL(500T), 100mL×10(5000T)

保存条件: 参照产品组成表

产品组成:

编号	产品名称	产品规格			保存条件
		200T	500T	5000T	
A 液	BCA 试剂 A	40mL	100mL	100mL×10	RT
B 液	BCA 试剂 B	1mL	1mL×2	1mL×20	RT
C 液	蛋白标准品(BSA) 5mg/mL	0.5mL	0.5mL	0.5mL×10	-20℃

产品介绍:

BCA 法是常用蛋白浓度测定方法之一。BCA 蛋白浓度测定试剂盒(BCA Protein Assay Kit)实现了蛋白浓度测定简单、稳定性高、灵敏度高和兼容性高的特点。

碱性条件下, 蛋白将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ , Cu^+ 与 BCA 试剂形成紫颜色的络合物, 测定其在 562nm 处的吸收值, 并与标准曲线对比, 即可计算待测蛋白的浓度。

在组织细胞裂解实验中, 常用浓度的去垢剂 SDS, Triton X-100, Tween 不影响检测结果, 但受螯合剂(EDTA, EGTA)、还原剂(DTT, 巯基乙醇)和脂类的影响。实验中, 若发现样品稀释液或裂解液本身背景值较高, 可试用 Bioss 生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(C05-02003)。

产品特点:

1. 准确灵敏, 线性范围广: BCA 试剂的蛋白质测定范围是 10-2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。
2. 快速: 45 分钟内完成测定, 比经典的 Lowry 法快 4 倍而且更加方便。
3. 经济实用: 在微孔板中进行测定, 可大大节约样品和试剂用量。
4. 不受样品中离子型和非离子型去污剂影响。
5. 检测不同蛋白质分子的变异系数远小于考马斯亮蓝。

使用说明:

1. 稀释蛋白标准品:

取 10 μL 标准品用 PBS 稀释至 100 μL (标准品一般可用 PBS 或 0.9%NaCl 稀释), 使终浓度为 0.5mg/mL。

2. BCA 工作液配置:

根据标准品和样品数量, 按体积比 A:B(50:1)配制适量 BCA 工作液, 充分混匀。BCA 工作液室温仅可保存 24 小时。

3. 蛋白浓度测定:

①将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μL 加到 96 孔板的蛋白标准品孔中, 加 PBS 补足到 20 μL , 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。

②对样本做适当稀释, 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中, 加 PBS 补足到 20 μL (对样本稀释尽量多

做几个梯度，如 2 倍、4 倍、8 倍等；蛋白样品与标准品保证使用相同溶液）。

③各孔加入 200 μ L BCA 工作液，37 $^{\circ}$ C 放置 30 分钟。

④用酶标仪 562nm 测定 OD 值。

⑤根据标准曲线计算出蛋白浓度。

注意事项：

1. 在低温条件或长期保存出现沉淀时，可搅拌或 37 $^{\circ}$ C 温育使溶解，如发现细菌污染则应丢弃。
2. 样品中若含有 EDTA、EGTA、DTT、硫酸铵、脂类会影响检测结果，请试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒；高浓度的去垢剂也影响实验结果，可用 TCA 沉淀去除干扰物质。
3. 要得到更为精确的蛋白浓度结果，每个蛋白梯度和样品均需做复孔，每次均应做标准曲线。
4. 当试剂 A 和 B 混合时可能会有浑浊，但混匀后就会消失，工作液在密闭情况下可保存 1 周。
5. 需准备 37 $^{\circ}$ C 水浴或温箱、酶标仪或普通分光光度计，测定波长为 540-595nm 之间，562nm 最佳。酶标仪需与 96 孔酶标板配套使用。使用分光光度计测定蛋白浓度时，试剂盒测定的样品数量会因此而减少。使用温箱孵育时，应注意防止因水粉蒸发影响检测结果。