

# BCA 蛋白定量试剂盒

BCA Protein Assay Kit

本产品冰袋运输；**BSA 标准品** -20℃保存,其它组分 4℃保存,保质期 12 个月。

## 货号规格

货号	规格
ZJ101	500次(微孔)
ZJ101L	500次(微孔)×5

## 产品内容

组分名称	ZJ101	ZJ101L
试剂 A	100 mL	100 mL×5
试剂 B	3 mL	3 mL×5
BSA 标准品 (5 mg/mL)	1 mL	1 mL×5

## 产品特点

- 准确性高** — 变异系数远小于考马斯亮蓝染色法；
- 线性范围宽** — 灵敏,检测范围: 20~2,000  $\mu\text{g/mL}$ ；
- 兼容性好** — 与金属离子、还原剂、螯合剂及去污剂兼容性较好。

## 产品简介

BCA 蛋白定量法是目前广泛使用的蛋白定量方法之一。本产品是基于 BCA(Bicin-choninic Acid)法研制而成,实现了对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。其原理是在碱性环境下蛋白质分子中的肽链结构能与  $\text{Cu}^{2+}$  络合生成络合物,同时将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^+$ , BCA 试剂可敏感特异地与  $\text{Cu}^+$  结合,形成稳定的有颜色的复合物,其在 562 nm 处有高的光吸收值,颜色的深浅与蛋白质浓度成正比,可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量。本试剂盒含有牛血清白蛋白 (BSA) 溶液作为蛋白质标准品溶液,测定范围为 20~2,000  $\mu\text{g/mL}$ 。

## 使用说明

### 以微孔酶标仪法为例:

#### 1. 稀释 BSA 标准品:

取 120  $\mu\text{L}$  蛋白标准品 (需完全融解),用与待测蛋白样品相一致的稀释液稀释至 300  $\mu\text{L}$ ,使终浓度为 2 mg/mL。

**注意:** 为方便起见,也可以用 0.9% 生理盐水或 PBS 缓冲液稀释标准品。



## 2. 配置显色工作液:

### a. 计算显色工作液总量:

工作液总量 = (BSA 标准品样本个数 + 待测样本个数) × 复孔数 × 每个样本显色工作液体积

**举例:** BSA 标准品样本个数为 9 个, 待测样本个数 3 个, 复孔数 3 个。

显色工作液总量 = (9 个 BSA 标准品样本 + 3 个待测样本) × 3 个复孔 × 200 μL (每个样本工作液体积) = 7.2 mL

### b. 根据计算出的所需显色工作液用量, 将试剂 A 和试剂 B 按照 50:1 的体积比, 配制显色工作液, 充分混匀。

**注意:** 1) 由于加样可能存在误差, 建议配制 BCA 工作液时, 多配制 1~2 个孔的量;

2) 新配制的 BCA 工作液室温密封条件下可稳定保存 24 h。

## 3. 定量检测:

### ① 将稀释后的标准品按 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 μL 分别加到 96 孔板中, 加入用于稀释标准品的溶液补足到 20 μL (为避免枪尖损失, 可先补足稀释液后加入标准品);

孔号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
稀释后的标准品(μL)	0	1	2	4	6	8	10	15	20
稀释液(μL)	20	19	18	16	14	12	10	5	0
BSA 终浓度(μg/mL)	0	100	200	400	600	800	1000	1500	2000

### ② 将样品适当稀释 (可以多作几个梯度, 如 2 倍、4 倍、8 倍稀释), 加 20 μL 到 96 孔板的样品孔中;

### ③ 各孔加入 200 μL 显色工作液, 充分混匀, 盖上 96 孔板盖, 37°C 孵育 30 min, 冷却至室温;

**注意:** 也可以室温放置 2 h, 或 60°C 放置 30 min。BCA 法测定蛋白浓度时, 吸光度会随着时间延长不断加深。并且显色反应会因温度升高而加快。如果蛋白浓度较低, 可在较高温度孵育, 或延长孵育时间。

### ④ 用酶标仪测定每个样品及 BSA 标准品的 A562, 或 540~590 nm 之间的其它波长的吸光度, 注意要减去空白对照 (稀释液 + 工作液) 的吸光度。

### ⑤ 绘制标准曲线, 计算样品中的蛋白浓度。

**注意:** 数据处理时需要去除明显错误的值。待测样品浓度可以从标准曲线中查得, 实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。如果是计算机绘制的曲线, 可以从计算机给出的线性方程式计算出待测样品的浓度。

## 注意事项

1. 本产品可以采用酶标仪 (微孔检测法) 或者分光光度计 (试管检测法) 测定蛋白浓度, 如使用普通的光分光光度计测定, 需根据比色皿的最小检测体积, 适当加大 BCA 工作液的用量使其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。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;
2. 试剂在低温条件或长期保存出现沉淀时, 可搅拌或 37°C 温育使其溶解;
3. 建议每次测定蛋白样品时, 都须绘制标准曲线, 以获得准确数据;
4. BSA 标准品的稀释液需与待测样品的稀释液一致 (可用 1×PBS 或 0.9% 生理盐水进行稀释);
5. 如待测样品中含较多的干扰物质 (具体见附表), 可采用其它蛋白定量产品;
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
7. 本产品仅限科研使用。



## 干扰物质附表

化合物	耐受浓度	化合物	耐受浓度
缓冲液		去垢剂和变性剂	
乙酸盐	0.2 M	Brij35	1%
甘氨酸	1 M	CHAPS	1%
HEPES	0.1 M	盐酸胍	4 M
MES	50 mM	NP-40	1%
MOPS	50 mM	辛葡糖	1%
柠檬酸钠	<1 mM	SDS	1%
PIPES	50 mM	Triton X-100	1%
磷酸钠	0.1 M	糖类	
乙酸钠	0.2 M pH 5.5	葡萄糖	10 mM
TES	50 mM	蔗糖	1 M
Tris	0.1 M	螯合剂	
盐类		EDTA	10 mM
硫酸铵	干扰	还原剂	
NaCl	1 M	$\beta$ -巯基乙醇	50 $\mu$ M
尿素	3 M	DTT	1 mM
极性化合物		其它	
DMSO	5%	HCl/NaOH	0.1 M
甘油	10%	脂类	干扰