

## BCA 蛋白定量试剂盒

### BCA Protein Assay Kit

本产品冰袋运输: **BSA 标准品**  $-20^{\circ}\text{C}$  保存, 其它组分  $4^{\circ}\text{C}$  保存, 保质期 12 个月。




#### 货号规格

ZJ101	500 次 (微孔)
ZJ101L	500 次 (微孔) $\times$ 5

#### 产品内容

组分	ZJ101	ZJ101L
试剂 A	100 mL	100 mL $\times$ 5
试剂 B	3 mL	3 mL $\times$ 5
BSA 标准品 (5mg/mL)	1 mL	1 mL $\times$ 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:  $20\sim 2,000\ \mu\text{g/mL}$ ;
-  **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  $562\text{nm}$  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  $20\sim 2,000\ \mu\text{g/mL}$ 。

#### 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  $2\ \text{mg/mL}$ 。

**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)  $\times$  复孔数  $\times$  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)  $\times$  3 个复孔  $\times$   $200\ \mu\text{L}$  (每个样本工作液体积) =  $7.2\ \text{mL}$

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24h。

### 3. 定量检测

1. 将稀释后的标准品按 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20  $\mu\text{L}$  分别加到96孔板中, 加入用于稀释标准品的溶液补足到20  $\mu\text{L}$  (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 ( $\mu\text{L}$ )	0	1	2	4	6	8	10	15	20
稀释液 ( $\mu\text{L}$ )	20	19	18	16	14	12	10	5	0
BSA 终浓度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	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  $\mu\text{L}$  到 96 孔板的样品孔中;

3. 各孔加入200  $\mu\text{L}$  显色工作液, 充分混匀, 盖上96孔板盖, 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育30 min, 冷却至室温;

**注意:** 也可以室温放置2h, 或60 $^{\circ}\text{C}$  放置30 min。BCA法测定蛋白浓度时, 吸光度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 $^{\circ}\text{C}$  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 $\times$  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
<b>缓冲液</b>		<b>去垢剂和变性剂</b>	
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	<b>糖类</b>	
乙酸钠	0.2 M pH5.5	葡萄糖	10 mM
TES	50 mM	蔗糖	1 M
Tris	0.1 M	<b>螯合剂</b>	
<b>盐类</b>		EDTA	10 mM
硫酸铵	干扰	<b>还原剂</b>	
NaCl	1 M	$\beta$ -巯基乙醇	50 $\mu$ M
尿素	3 M	DTT	1 mM
<b>极性化合物</b>		<b>其它</b>	
DMSO	5%	HCl/NaOH	0.1 M
甘油	10%	脂类	干扰

版本号：21106