

版本号: PA121221

## BCA Protein Assay Kit

### BCA蛋白质定量试剂盒

目录号: PA115

#### 产品内容

产品组成	PA115-01*	PA115-02**
BCA试剂A (BCA Reagent A)	100 ml	500 ml
BCA试剂B (BCA Reagent B)	3 ml	15 ml
BSA 标准品 (BSA Standard Solution) (2 mg/ml)	2 × 1 ml	10 × 1 ml

\*PA115-01试剂盒所携带的试剂可满足50 rxn微管检测和500 rxn微板检测。

\*\*PA115-02试剂盒所携带的试剂可满足250 rxn微管检测和2500 rxn微板检测。

#### 储存条件

BCA试剂A 和BCA试剂B室温保存。

BSA标准品-20°C 保存。

---

## 产品简介

BCA蛋白质定量试剂盒(BCA Protein Assay Kit)是根据目前世界上最常用的两种蛋白浓度检测方法中的BCA (bicinchoninic 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。本试剂盒的原理是蛋白质分子中的肽键结构在碱性环境下能与 $\text{Cu}^{2+}$ 生成络合物, 并将 $\text{Cu}^{2+}$ 还原成 $\text{Cu}^+$ , 而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, 并在562 nm 处有最大光吸收值, 该复合物颜色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。

1 h内即可完成蛋白质定量检测。本试剂盒含有牛血清白蛋白 (BSA) 溶液作为蛋白质标准溶液, 测定范围为20-2000  $\mu\text{g/ml}$ 。

## 操作步骤

1. 标准品的稀释: 用与样品相同缓冲体系的稀释剂按下表对BSA标准品进行稀释:

BSA标准浓度配制表			
管号	稀释剂体积	BSA体积 (来源)	BSA终浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )
A	0 $\mu\text{l}$	300 $\mu\text{l}$ (母液)	2000
B	125 $\mu\text{l}$	375 $\mu\text{l}$ (母液)	1500
C	325 $\mu\text{l}$	325 $\mu\text{l}$ (母液)	1000
D	175 $\mu\text{l}$	175 $\mu\text{l}$ (B管)	750
E	325 $\mu\text{l}$	325 $\mu\text{l}$ (C管)	500
F	325 $\mu\text{l}$	325 $\mu\text{l}$ (E管)	250
G	325 $\mu\text{l}$	325 $\mu\text{l}$ (F管)	125
H	400 $\mu\text{l}$	100 $\mu\text{l}$ (G管)	25
I	400 $\mu\text{l}$	0	0 (空白对照)

---

- 
2. 配制BCA工作液：依据样品数量，将试剂A和试剂B按体积比50:1配制适量BCA工作液，并充分混匀。

**注：配制BCA工作液前请将试剂A摇晃混匀**

3. 标准比色杯测定方法：

- 1) 吸取0.1 ml的每种标准品和待测样品置于合适的管中。
- 2) 加入2.0 ml的BCA工作液, 彻底混匀。
- 3) 加盖，37°C 孵育30 min后冷却至室温或室温放置2 h。
- 4) 用紫外分光光度计于562 nm处检测其吸光度。
- 5) 根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

4. 微管测定方法：

- 1) 分别取25  $\mu$ l表格中新鲜配制的BSA标准液和待测样品，加入到96孔板中。
- 2) 每孔中加入200  $\mu$ l BCA工作液，并充分混匀。
- 3) 加盖，37°C 孵育30 min后冷却至室温或室温放置2 h。
- 4) 用紫外分光光度计于562 nm处检测其吸光度。
- 5) 根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

## 注意事项

1. 测值范围：OD<sub>540</sub>-OD<sub>590</sub>，分别测定OD<sub>540</sub>，OD<sub>562</sub>以及OD<sub>590</sub>的吸收值，标准曲线均为线性，OD<sub>562</sub>测值最高。
  2. 标准曲线的线性范围为20-2000  $\mu$ g/ml。
  3. 工作液配制之后24 h内使用对标准曲线无影响。
-

---

## 适用范围

本检测方法可耐受的干扰物质浓度表:

干扰物质	耐受浓度	干扰物质	耐受浓度
<b>盐/缓冲液</b>		<b>去垢剂</b>	
HEPES (pH7.9)	100 mM	NP 40	5.0%
PIPES(pH6.8)	100 mM	TRITON X-100	4%
NaCl	1 M	SDS	4%
HCl	100 mM	TWEEN20	4%
NaOH	100 mM	<b>混合物&amp;极性化合物</b>	
Sodium citrate	100 mM	PMSF	1 mM
TRICINE(pH8.0)	20 mM	Acetone	10%
Sodium Acetate	200 mM	Ethanol	10%
Guanidine.HCl	4 M	Glycerol	10%
Tris	50 mM	Urea	3 M
<b>螯合剂</b>		DMSO	10%
EDTA	10 mM	Sucrose	40%
<b>还原剂</b>			
DTT	0.2 mM		

---