

## BCA 蛋白定量试剂盒

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。

### 产品规格：

货号	规格
ADS001DL	500次(微孔)
ADS001DL1	500次(微孔)×5

### 产品内容：

组分名称	ADS001DL	ADS001DL1
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 μg/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(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。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 μg/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)  $\times$  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 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  $\mu\text{L}$  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 ( $\mu\text{g/mL}$ )	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°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°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
<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	1M	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 pH 5.5	葡萄糖	10 mM
TES	50 mM	蔗糖	1M
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	1M	β- 巯基乙醇	50 μM
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