

AWB0104

## BCA Protein Assay Kit

### BCA蛋白定量试剂盒

#### 产品介绍

BCA蛋白定量法是目前常用的蛋白定量方法之一。本产品的原理是在碱性条件下，蛋白质将 $\text{Cu}^{2+}$ 还原为 $\text{Cu}^+$ ， $\text{Cu}^+$ 与BCA试剂（Bicinchoninic Acid，二喹啉甲酸）形成紫色络合物，该络合物在562nm处有紫外吸收峰，与标准曲线对比，即可计算出待测蛋白的浓度。

BCA法快速、灵敏、稳定。以BSA（牛血清蛋白）溶液为蛋白质标准品溶液，测定范围为20~2000  $\mu\text{g/ml}$ 。

#### 产品规格

名称	AWB0104a (100T)	AWB0104b (250T)	AWB0104c (500T)	AWB0104d (2500T)
BCA-A	20ml	50ml	100ml	500ml
BCA-B	0.6ml	1.5ml	3ml	15ml
BSA Standard Solution	0.5ml	1ml	2ml	10ml

注：

- 在低温条件或长期保存出现沉淀时，可搅拌或37℃温育使溶解，如发现细菌污染则应丢弃。
- 试剂A与试剂B用应密闭保存。

#### 保存条件

RT避光，BSA Standard Solution 2-8℃保存

#### 使用方法

##### A. 96孔酶标板测定：

1、BSA蛋白质标准工作液配制：用与待测蛋白样品一致的稀释液按下表稀释BSA标准品：

编号	稀释液用量 ( $\mu\text{l}$ )	BSA标准品用量 ( $\mu\text{l}$ )	BSA标准品最终浓度 ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )
A	0	100	2
B	200	200	1
C	200	200 (从B管取)	0.5
D	200	200 (从C管取)	0.25
E	200	200 (从D管取)	0.125
F	200	200 (从E管取)	0.0625
G	200	0	0

2、体积比为50：1的比例配制适量BCA工作液，充分混匀；

例子：BSA标准样品个数为7个，待测样品为2个，每个样品重复3次。

**96孔检测法所需BCA工作液总量为：**

(7个BSA标准品样品+2个待测品样品)  $\times 3 \times 0.2\text{ml} = 5.4\text{ml}$ ；

再根据BCA-A和BCA-B体积比50：1的比例计算所需量。但是由于加样过程中存在误差，建议多配2个孔的量。

3、96孔板检测过程：

(1) 将上述稀释好的BSA标准样品和待测样品各25 $\mu\text{l}$ 分别加到做好标记的96孔板中，每个样品推荐做2-3

本产品仅作科研用途！

个重复。

(2) 每个孔加入200 $\mu$ l BCA工作液，充分混匀，盖上96孔板盖，37 $^{\circ}$ C 孵育30min，冷却至室温，去除气泡，在3~5min内完成检测。

(3) 用酶标仪在540~590nm（建议是562nm，也可选择550/630nm）范围内检测96孔板中所有样品的吸光值。

(4) 根据上述BSA标准品浓度和吸光值绘制标准曲线，计算待测样品蛋白浓度。

## B. 比色皿测定：

按照比色皿规格，与以上方法相同，适当按比例增加各溶液体积即可。

### 使用注意事项：

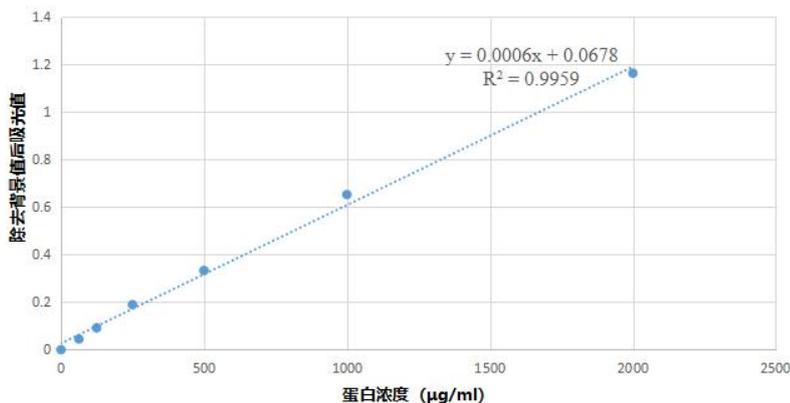
- 1、由于该法检测时，吸光值会随时间延长而加深，因此，须在3~5min内完成检测，否则会影响蛋白浓度定量的准确性。
- 2、建议去除背景值后的吸光值读数绘制标准曲线。
- 3、使用温箱孵育时，应注意防止因水分蒸发导致的误差。
- 4、由于操作误差导致标准品读数严重偏离线性曲线的应该去除。
- 5、试剂A和试剂B混合后可能会出现浑浊，充分混匀后消失。
- 6、未知样品蛋白浓度可以从标准曲线方程计算得到，实际样品蛋白浓度需要乘以相应的稀释倍数。
- 7、如果得到的蛋白浓度不在检测范围内，请重新稀释样品后再次测定。
- 8、若样品中含有较高浓度的EDTA等螯合剂，建议选用Bradford法检测。

## BCA蛋白定量浓度分析结果举例

### 96孔检测法结果

蛋白浓度 ( $\mu$ g/ml)	去除背景值后的吸光值	原始吸光值
0	0	0.0416 (背景值)
62.5	0.0449	0.08655
125	0.0918	0.1334
250	0.1896	0.2312
500	0.3331	0.3747
1000	0.6524	0.694
2000	1.1627	1.2043

BCA蛋白定量分析图



### 附表：

常见干扰物质的上限浓度			
化合物	浓度	化合物	浓度
NP-40	1.0%	葡萄糖	10mM
SDS	1.0%	蔗糖	1M

盐酸胍	4M	EDTA	10mM
Triton X-100	1%	$\beta$ -巯基乙醇	50 $\mu$ M
甘氨酸	1M	DTT	1mM
乙酸盐	0.2M	尿素	3M
Tris	0.1M	DMSO	5%
NaCl	1M	甘油	10%
HCl/NaOH	0.1M	TES	50mM
HEPES	0.1M	MOPS	50mM

## 注意事项

- 1、为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
- 2、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。