

BCA 蛋白质定量试剂盒

BCA Protein Assay Kit

Cat. No.: C3001 Size: 50-500 次



描述: 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蛋白浓度检测方法之一—BCA (bicinchoninic acid) 法改良研制而成, 该试剂盒具有蛋白浓度测定的简单性, 高稳定性, 高灵敏度和高兼容性。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 Cu^{2+} 络合生成络合物, 将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ , 而 BCA 试剂可敏感特异地与 Cu^+ 结合, 形成稳定的有颜色的复合物, 并在 562nm 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的含量, 1 小时内即可完成蛋白定量检测。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 25~2000 $\mu\text{g/ml}$ 。该试剂盒可用于 20 次试管检测或 200 次 ELISA 板检测。

组分

组分	数量	保存
BCA Reagent A	100 ml	室温
BCA Reagent B	1 ml×2	室温
BSA 标准品 (2 mg/ml)	1 ml×2	-20°C

操作方法

1. 标准品的稀释: 按下表将 BSA 进行稀释。

管号	PBS	BSA 体积 (来源)	BSA 终浓度 ($\mu\text{g/ml}$)
A	0	300 μl (母液)	2000
B	125 μl	375 μl (母液)	1500
C	325 μl	325 μl (母液)	1000
D	175 μl	175 μl (B 管)	750
E	325 μl	325 μl (C 管)	500
F	325 μl	325 μl (E 管)	250
G	325 μl	325 μl (F 管)	125
H	400 μl	100 μl (G 管)	25
I	400 μl	0	0

2. BCA 工作液的配置: 根据样品数量及测定方法, 将 BCA Reagent A 和 BCA Reagent B 按体积比 50:1 充分混匀即可。

注意: 配制 BCA 工作液前请将 BCA Reagent A 混匀。

3. 标准比色杯测定方法

- (1)吸取 0.1 ml 的各标准品和待测样品置于合适的管中。
- (2)加入 2 ml BCA 工作液, 充分混匀。
- (3)37°C 孵育 30 min, 然后室温静置 10 min。
- (4)紫外分光光度计于 562 nm 处检测吸光度。
- (5)绘制标准曲线。
- (6)根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

4. 微管测定方法

- (1)分别取 25 μl 新鲜配制的 BSA 标准液和待测样品, 加入到 ELISA 反应板中。
- (2)每孔加入 200 μl BCA 工作液, 充分混匀。
- (3)37°C 孵育 30 min, 然后室温静置 10 min。
- (4)酶标仪于 562nm 处检测吸光度。
- (5)绘制标准曲线。
- (6)根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

注意事项

1. 待测样品浓度在 25~2000 $\mu\text{g/ml}$ 的范围内具有良好的线性关系。
2. BCA 工作液配制后 24 小时内使用效果稳定。
3. 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。如果浓度较低, 适合在较高温度孵育, 或延长孵育时间。
4. 使用普通的分光光度计测定时, 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调整。
5. 适用范围

BCA 蛋白质定量试剂盒

BCA Protein Assay Kit

Cat. No.: C3001 Size: 50-500 次



盐/缓冲液类干扰物质	耐受浓度	去垢剂类干扰物质	耐受浓度
HEPES (pH 7.9)	≤100 mM	NP-40	≤5%
PIPES (pH 6.8)	≤100 mM	Triton	≤4%
NaCl	≤1 M	X-100	≤4%
HCl	≤100 mM	SDS	≤4%
NaOH	≤100 mM	Tween-20	
Sodium citrate	≤100 mM	混合物&极性化合物	耐受浓度
TRICINE (pH 8.0)	≤20 mM		
Sodium Acetate	≤200 mM		
Guanidine.HCl	≤4 M	PMSF	≤1 mM
Tris	≤50 mM	Acetone	≤10%
Sucrose	≤40%	Ethanol	≤10%
EDTA	≤10 mM	Glycerol	≤10%
DTT	≤0.2 mM	Urea	≤3 M
		DMSO	≤10%

实例操作

按上述操作方法可得到如下标准工作曲线，该线性方程经过多次绘制，系数均为 0.0001，且 R^2 值均在 0.99~1 之间，重复性好，在计算蛋白浓度时可直接用该标准工作曲线进行计算。例如：在 562 nm 处检测吸光值为 0.1，则此时 y 值为 0.1，代入方程 $y=0.0001x$ 中，可得蛋白浓度为 1000 $\mu\text{g/ml}$ 。

