

## BCA 蛋白浓度测定试剂盒

### PL103-500

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
BCA 蛋白浓度测定试剂盒	PL103-500	500T

#### 产品简介

BCA 蛋白浓度测定试剂盒的原理是蛋白质分子中肽键结构在碱性环境下能与  $\text{Cu}^{2+}$  生产络合物，并将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^+$ ，而 BCA 试剂可以特异性地与  $\text{Cu}^+$  结合，形成稳定的有颜色的复合物，并在 562nm 处有最大的光吸收值，该复合物颜色的深浅与蛋白质浓度成正比，可以根据吸收值的大小来测定蛋白的含量。

#### 产品特点

- 1、灵敏度高，检测浓度下限达到  $25\mu\text{g/ml}$ （在 20-  $1000\mu\text{g/ml}$  浓度范围内有较好的线性关系），最小检测蛋白量达到  $0.2\mu\text{g}$ ，待测样品体积为 1-20 $\mu\text{l}$ 。
- 2、BCA 法测定蛋白浓度的最大优点是蛋白浓度的测定可以耐受高浓度的去垢剂，可以兼容样品中高达 5% 的 SDS，5% 的 TritonX-100，5% 的 Tween20，60，80。但受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保 EDTA 低于 10mM，无 EGTA，二硫苏糖醇低于 1mM， $\beta$ -巯基乙醇低于 0.01%。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 储存与运输

试剂 A 和试剂 B 室温贮存；牛血清白蛋白标准溶液-20 °C 贮存；PBS 溶液 4 °C 贮存。本试剂盒有效期 1 年。

#### 产品组分

产品编号	产品名称	规格	储存条件
BCA-A	BCA 试剂A	100 ml	RT
BCA-B	BCA 试剂B	3 ml	RT
BCA-C	牛血清白蛋白(BSA)标准溶液 (5 mg/ml)	2×1 ml	-20°C
BCA-D	PBS 溶液	10 ml	4°C

**使用说明:**

**BCA 工作液配制:**

将试剂 A 和试剂 B 按照体积比 50:1 比例混合, 配成 BCA 工作液。如取 50ml 试剂 A 与 1ml 试剂 B 混合, 配成 51 ml BCA 工作液。两者混合时会有沉淀形成, 彻底混匀后沉淀消失。

**微孔板测定程序: (工作范围 20-2000 µg/ml)**

1、蛋白标准品配制: 室温完全溶解蛋白标准品, 取 20µl 5mg/ml BSA 蛋白标准溶液用 PBS 溶液稀释至 100µl, 使其终浓度为 1.0mg/ml。

2、按照下表配制 BSA 标准测定溶液:

编号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
	1 mg/ml BSA 标准溶液 µl							5 mg/ml BSA 标准溶液 µl	
BSA 标准溶液 µl	0	0.5	2.5	5.0	10	15	20	6	8
PBS 溶液 µl	20	19.5	17.5	15	10	5	0	14	12
BSA 终浓度 µg/ml	0	25	125	250	500	750	1000	1500	2000
总体积 µl	20 µl								

3、将适当体积的待测样品加入到微孔板中, 并用 PBS 补足到 20 µl

4、向微孔板中加入 200 µl BCA 工作液, 混匀, 37 °C 放置 30 分钟;

注: 也可以室温放置 2 小时, 或 60°C 放置 30 分钟。BCA 法测定蛋白浓度时, 颜色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, 或适当延长孵育时间。

5、测定 562nm 处的吸光值, 并记录读数; 以不含 BSA 的样品的光吸收值作为空白对照。

6、以 A562 为纵坐标, BSA 含量为横坐标, 绘制标准曲线, 计算样品中的蛋白浓度。如果所得到的蛋白浓度不在标准曲线范围内, 请稀释样品后重新测定。

**试管测定程序: (工作范围 20-1000 µg/ml)**

1、蛋白标准品配制: 室温完全溶解蛋白标准品, 取 150µl 5mg/ml BSA 蛋白标准溶液, 加入 600µl PBS 溶液稀释至 750µl, 使其终浓度为 1.0 mg/ml。

2、按照下表配制 BSA 标准测定溶液:

编号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
	1 mg/ml BSA 标准溶液 µl							5 mg/ml BSA 标准溶液 µl	
BSA 标准溶液 µl	0	2.5	12.5	25	50	75	100	30	40
PBS 溶液 µl	100	97.5	87.5	75	50	25	0	70	60
BSA 终浓度 µg/ml	0	25	125	250	500	750	1000	1500	2000
总体积 µl	100 µl								

- 3、将适当体积的待测样品加入到试管中，并用 PBS 补足到 100  $\mu$ l；
- 4、向试管中加入 2ml BCA 工作液，混匀，37  $^{\circ}$ C 放置 30 分钟；
- 5、6 步骤同上。