

BCA法蛋白浓度测定试剂盒

（增强型）

产品编号	试剂名称	规格/数量	数量	保存条件
Omp-03-S	BCA-A 液	40 mL/瓶	1	RT
	BCA-B 液	1 mL/支	2	RT
	蛋白标准液 (BSA, 25 mg/mL)	1 mL/支	2	-20°C
Omp-03-M	BCA-A 液	100 mL/瓶	1	RT
	BCA-B 液	1 mL/支	5	RT
	蛋白标准液 (BSA, 25 mg/mL)	1 mL/支	4	-20°C
Omp-03-L	BCA-A 液	400 mL/瓶	1	RT
	BCA-B 液	10 mL/支	2	RT
	蛋白标准液 (BSA, 25 mg/mL)	1 mL/支	12	-20°C
	说明书	1 份		

一、运输与存储条件。

本产品常温运输，各组份依据保存条件分开保存，有效期 2 年。

二、注意事项（请使用试剂盒前阅读此注意事项）。

1. BCA法也可使用分光光度计测定，并根据比色皿的检测体积，适当加大BCA工作液用量，标准品和待测样品用量不变。
2. BCA法蛋白浓度测定试剂受螯合剂(EDTA, EGTA)、还原剂 (DTT, 巯基乙醇)、尿素、蔗糖和脂类的影响，应保证蛋白样品中不含有以上试剂。
3. BCA工作液与样品混合后，可以37 °C 孵育30 min，也可以室温放置2 h。
4. BCA法测定蛋白浓度时，工作液颜色会随着孵育时间的延长不断加深。并且显色反应会因温度升高而加快。如果样品中的蛋白浓度较低，可适当延长孵育时间。
5. 为了您的健康，实验过程中请穿好实验服并佩戴乳胶手套。

三、产品简介。

BCA 法蛋白浓度测定试剂盒是目前测定蛋白浓度的常用试剂，含有 BCA (bicinchoninic acid) 的 A 液与含有二价铜离子 B 液混合，即成为苹果绿的 BCA 工作液。加入含有蛋白质的样品后，工作液中的 BCA 与蛋白质结合后，蛋白质将 Cu^{2+} 还原为 Cu^{+} ，工作液由绿色变成紫色，在 562 nm 处

具有最大吸收峰，且光吸收值与蛋白质浓度成正比。因此，可以通过测定工作液的光吸收值来计算样品中的蛋白浓度。

四、特点与优势。

1. 灵敏度高。检测浓度下限达到 10 $\mu\text{g/ml}$ ，最小检测蛋白量达到 0.2 μg 。
2. 抗干扰能力强。常用浓度的去垢剂，如 SDS，Triton X-100，Tween-20 不影响检测结果。

五、自备试剂与耗材。

ddH₂O，96 孔板等。

六、使用说明（96 孔板法）。

1. 配制 BCA 工作液。根据标准品和待测样品数量，按照每个样品需要 200 μL 工作液的标准计算工作液体积，并按照 A 液：B 液=50:1 的比例配制 BCA 工作液。
2. 将蛋白标准品用 ddH₂O 稀释 50 倍，配制成 0.5 mg/mL。
3. 将稀释的蛋白标准液加入 96 孔板孔中，体积分别为 0、1、2、4、8、12、16、20 μl ，并加入灭菌 ddH₂O 补足体积到 20 μl ，对应的蛋白浓度分别为 0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/ml。
4. 将待测样品加入 96 孔板孔，并利用灭菌 ddH₂O 补足体积到 20 μl 。每组样品设置 3 个重复。
5. 各孔加入 200 μl BCA 工作液，振荡混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min，冷却至室温。
6. 用酶标仪测定 562 nm 处光吸收值（OD values），若无 562 nm 的滤光片，也可以测定 540-595 nm 波长的光密度值。
7. 根据标准曲线和样品稀释倍数计算蛋白浓度。

七、检测效果鉴定。

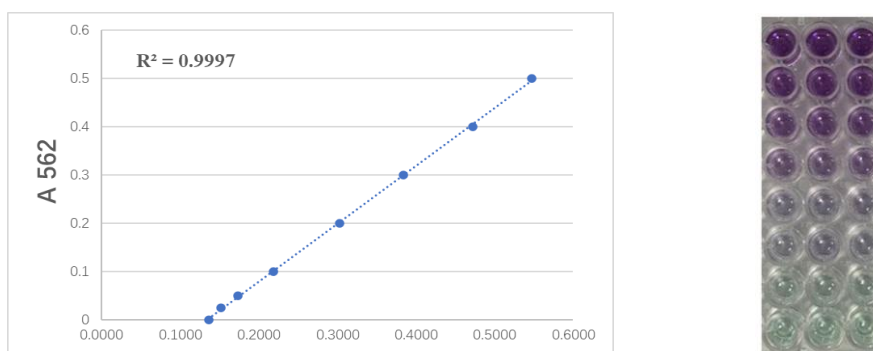


图 1. BCA 法蛋白浓度测定试剂盒检测结果。

左图为 BCA 工作液检测数据制作的标准曲线，右图为 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 实际显色效果。其中标准曲线回归方程的 $R^2=0.9997$ ，说明试剂的准确度和灵敏度很高。