



BCA Protein Assay Kit

BCA 蛋白质定量试剂盒

版本号: V220601

货号: E162

保存: 4°C, 其中“BSA Protein Standard”-20°C保存

运输: 低温

货号	规格
E162-01	100 ml
E162-05	100 ml×5

【产品概述】

BCA (Bicinchoninic Acid) 蛋白浓度检测法是目前常用的蛋白质定量方法之一。BCA 测定方法的原理与 Lowry 法相似, 利用 Cu^{2+} 在碱性条件下, 可以被蛋白质还原成 Cu^+ , Cu^+ 与 BCA 试剂结合形成紫色的络合物的特性, 通过测定样品在 562 nm 波长下的吸光值, 并同蛋白标准曲线对比, 即可计算出待测样品的蛋白浓度。BCA 法与 Lowry 法相比, 操作更为简便, 稳定性更好。该方法还具有反应产物稳定、灵敏度高、线性范围广、对不同种类蛋白质检测的变异系数小、对去垢剂耐受性好等特点, 特别适合于微量测定。

【产品组分】

组分名称	E162-01	E162-05
BCA Reagent A	100 ml (约100次标准法)	100 ml×5 (约500次标准法)
BCA Reagent B	3 ml	15 ml
BSA Protein Standard (2 mg/ml)	1 ml×4	1 ml×20

【保存条件】

4°C保存, 保质期 12 个月; 其中“BSA Protein Standard”-20°C保存。

【使用方法】

I. 标准法: (线性范围: 20-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 反应总体积: 1.1 ml)

- 制备BCA工作液:** 根据标准品和待测样品的数量, 将适量Reagent A和Reagent B按50:1 (v/v) 的比例混合。混合过程中液体可能出现浑浊, 充分混匀后则形成清亮浅绿色溶液。BCA工作液室温24 h内稳定。

注: 每个样品需要1 ml的BCA工作液, 请根据样品数量和BSA Protein Standard梯度浓度溶液的数量, 计算所需要的BCA Reagent A和BCA Reagent B的量。

- 配制BSA Protein Standard梯度浓度溶液:**

按照下表, 在1.5 ml的EP管中进行不同浓度BSA Protein Standard的配制

编号	A	B	C	D	E	F	G	H
BSA Protein Standard (2 mg/ml) (μl)	0	15	30	60	120	180	240	300
去离子水 (μl)	300	285	270	240	180	120	60	0
BSA浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	0	100	200	400	800	1200	1600	2000

- 样品准备:** 若待测样品若浓度过高, 超出上述检测范围, 可用去离子水制备2-3个稀释梯度浓度。
- 分别取100 μl 各个待测样品、以及步骤2中所配制的BSA Protein Standard梯度浓度溶液, 与1 ml BCA工作液均匀混合, 加入比色杯中; 如有需要, 每个样品或标准品可以做一个重复, 以保证数据的准确性。
- 37°C放置30 min后, 自然冷却至室温;
- 使用分光光度计测定562 nm波长 (或540-590 nm波长) 下的吸光值 (所有样品应在10 min之内读完);
- 根据蛋白标准品浓度和吸光值, 制作蛋白浓度标准曲线;
- 根据蛋白浓度标准曲线和样品稀释倍数计算样品的蛋白浓度。



II. 微量法：（线性范围：20-2000 µg/ml；反应总体积：220 µl）

- 制备BCA工作液：**根据标准品和待测样品的数量，将适量Reagent A和Reagent B按50:1（v/v）的比例混合。混合过程中液体可能出现浑浊，充分混匀后则形成清亮浅绿色溶液。BCA工作液室温24 h内稳定。

注：每个样品需要200 µl的BCA工作液，请根据样品数量和BSA Protein Standard梯度浓度溶液的数量，计算所需要的BCA Reagent A和BCA Reagent B的量。

- 配制BSA Protein Standard梯度浓度溶液：**

按照下表，在96孔板中进行不同浓度BSA Protein Standard的配制

编号	A	B	C	D	E	F	G	H
BSA Protein Standard (2 mg/ml) (µl)	0	3	6	12	24	36	48	60
去离子水 (µl)	60	57	54	48	36	24	12	0
BSA浓度 (µg/ml)	0	100	200	400	800	1200	1600	2000

- 样品准备：**若待测样品若浓度过高，超出上述检测范围，可用去离子水制备2-3个稀释梯度浓度。
- 分别取20 µl各个待测样品、以及步骤2中所配制的BSA Protein Standard梯度浓度溶液加入96孔板孔；如有需要，每个样品或标准品可以做一个重复，以保证数据的准确性。
注：如果样品量特别少，也可以分别取10 µl各个待测样品、以及步骤2中所配制的BSA Protein Standard梯度浓度溶液加入96孔板孔中，并按后续步骤进行实验。在此情况下，浓度测定的线性范围：125-2000 µg/ml；反应总体积：210 µl
- 向各孔中加入200 µl BCA工作液，均匀混合；
- 96孔板用封板膜封好，37°C放置30 min后，自然冷却至室温；
- 使用酶标仪测定562 nm波长（或540-590 nm波长）下的吸光值；
- 根据蛋白标准品浓度和吸光值，制作蛋白浓度标准曲线；
- 根据蛋白浓度标准曲线和样品稀释倍数计算样品的蛋白浓度。

【补充说明】

- BCA蛋白浓度测定的显色反应依赖于Cu²⁺离子的还原。还原剂如DTT、巯基乙醇，以及离子络合剂如EDTA、EGTA，均可干扰呈色反应。因此当样品中上述物质含量较高时，应选择使用Bradford Protein Assay Reagent (Cat# E161) 或采用稀释、透析、TCA沉淀等方法去除上述干扰物质。
- 反应温度和时间也可根据实验需要作如下调整：
 - 室温反应：25°C放置2 h（线性范围：20-2000 µg/ml）
 - 增强反应：60°C水浴放置30 min（线性范围：5-250 µg/ml）
 注：反应时间越长或反应温度越高，A_{562nm}测量值越高，但会导致检测灵敏度降低，线性范围缩小。
- 尽量使用水浴或金属浴进行温育。若使用培养箱温育时，应避免将比色杯或96孔板放置在温箱底部和风扇附近，以防因加热不均而导致的显色差异。

【附注】样品中所含化学物质可接受浓度参考表

化学物质	葡萄糖	蔗糖	HEPES	CHAPS	NaCl	NaOH	Triton X-100
可接受浓度	10 mM	40%	0.1 M	5.0%	1 M	0.1 M	5.0%
化学物质	NP-40	SDS	DTT	EDTA	Urea	Guanidine HCl	(NH ₄) ₂ SO ₄
可接受浓度	5.0%	5.0%	1 mM	10 mM	3.0 M	4.0 M	1.5 M

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。