

BCA 蛋白定量检测试剂盒（即用型）

产品介绍

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将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ ，BCA 试剂可以特异性地与 Cu^+ 结合，从而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，与标准曲线对比，来测定蛋白的含量。

本试剂盒可以检测 500 个样品（使用微孔板）或 100 个样品（使用试管）。

应用范围

蛋白定量

产品货号

B6169

储运条件

试剂 A、试剂 B 室温保存，BSA 标准溶液 -20℃ 储存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

灵敏度高：检测浓度下限达到 25μg/mL（在 20-1000μg/mL 浓度范围内有较好的线性关系），最小检测蛋白量达到 0.2μg，待测样品体积为 1-20μL；

耐受度高：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 Triton X-100，5% 的 Tween 20，60，80。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，β-巯基乙醇低于 0.01%。

产品组分

Cat.No.	B6169 (500T)	保存温度
试剂 A	100 mL	RT
试剂 B	3 mL	RT
BSA 标准品① (2000 μg/mL)	1 mL	-20℃
BSA 标准品② (1500 μg/mL)	1 mL	-20℃
BSA 标准品③ (1000 μg/mL)	1 mL	-20℃
BSA 标准品④ (750 μg/mL)	1 mL	-20℃
BSA 标准品⑤ (500 μg/mL)	1 mL	-20℃
BSA 标准品⑥ (250 μg/mL)	1 mL	-20℃
BSA 标准品⑦ (125 μg/mL)	1 mL	-20℃
BSA 标准品⑧ (0 μg/mL)	1 mL	-20℃

注意事项

- 试剂 A 如果低温条件下出现絮状结晶时，可 37℃ 使其完全溶解，不影响使用。
- 试剂组分使用前请先上下颠倒混匀。
- 建议每次测定蛋白样品时，都要绘制标准曲线，使测量结果准确。
- 为了提高样品测量结果的准确性，样品浓度不宜太高或者太低，否则需要提前稀释或者浓缩。
- 样本可以用 1*PBS 稀释。

- 本产品仅限于科研，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。

- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

- 耗材

96 孔酶标板

- 试剂

0.9% 的 NaCl、PBS 缓冲液

操作步骤

- 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 50 mL 试剂 A 与 1 mL 试剂 B 混合，配成 51 mL BCA 工作液。

*BCA 工作液室温可放置一周不失效。

- 微孔板测定程序：（工作范围 20-2000 μg/mL）

标准曲线绘制：

孔板编号	1	2	3	4	5	6	7	8
BSA 标准溶液编号	⑧	⑦	⑥	⑤	④	③	②	①
添加体积 μL	20	20	20	20	20	20	20	20
BSA 终浓度 μg/mL	0	125	250	500	750	1000	1500	2000

- 分别取即用型 BSA 标准溶液 ①~⑧ 各 20 μL 加到 96 孔板中；
曲线绘制：

- 将 BSA 标准溶液按照 20 μL / 孔的量分别加入到微孔板中；

- 向微孔板中加入 200 μL BCA 工作液，混匀，37 °C 放置 30 分钟；

- 测定 562 nm 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。

- 以 A562 为横坐标（注意要减去空白对照的吸光度），BSA 含量为纵坐标，绘制标准曲线。

*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。

- 试管测定程序：（工作范围 20-2000 μg/mL）

标准曲线绘制：

- 分别取即用型 BSA 标准溶液 ①~⑧ 各 20 μL 加到 96 孔板中；

试管编号	1	2	3	4	5	6	7	8
BSA 标准溶液编号	⑧	⑦	⑥	⑤	④	③	②	①
添加体积 μL	100	100	100	100	100	100	100	100
BSA 终浓度 μg/mL	0	125	250	500	750	1000	1500	2000

- 将 BSA 标准溶液按照 100 μL / 管的量分别加入到试管中；

- 向试管中加入 1mL BCA 工作液，混匀，37 °C 放置 30 分钟；

- 测定 562 nm 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。

- 以 A562 为横坐标（注意要减去空白对照的吸光度），BSA 含量为纵坐标，绘制标准曲线。

- 样品测定：

- 稀释待测样品至合适浓度，使样品稀释液总体积为 100 μL，加入 BCA 工作液 1 mL，充分混匀，37 °C 孵育 30 min。

(2) 测定 562 nm 处的吸光值，并记录读数，根据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。

*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。

同系列产品

产品货号	产品名称	选购指南
B6167	BCA 蛋白定量检测试剂盒	可自行设置标曲浓度，宽范围或者高灵敏
B6169	BCA 蛋白定量检测试剂盒 (即用型)	方便快捷，无需客户制备标品