

BCA 蛋白质定量试剂盒

BCA Protein Assay Kit

货号：DE201-01

保存：4°C

| 货号 | 规格 |
|----------|----------|
| DE201-01 | 100 ml |
| DE201-05 | 100 ml*5 |

【产品概述】

本产品是根据目前常用的蛋白浓度检测方法之一 BCA 法研制而成，BCA 测定方法的原理与 Lowry 法相似，利用 Cu²⁺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。

【产品组分及保存条件】

| 货号 | 组分 | 规格 | 保存条件 |
|--------|--------------------------------|--------|-------|
| DE201A | BCA Solution A | 100 ml | 4°C |
| DE201B | BCA Solution B | 3 ml | 4°C |
| DE201C | BSA Protein Standard (2 mg/ml) | 1 ml*4 | -20°C |

【保存条件】

室温（4°C）保存12个月，其中组分DE201C放置于-20°C保存。

【使用方法】

I. 标准法：（线性范围：20–2000 μg/ml；反应总体积：1.1 ml）

1. 制备BCA工作液：根据标准品和待测样品的数量，将适量Solution A和Solution 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 Solution A和BCA Solution B的量。

2. 按照下表在 1.5ml EP 管中进行不同浓度 BCA Protein Standard 配制

| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| BCA Protein Standard (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 (μg/ml) | 0 | 100 | 200 | 400 | 800 | 1200 | 1600 | 2000 |

3. 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。

4. 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。

5. 37°C 放置 30 min 后，自然冷却至室温；

6. 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）；

7. 根据蛋白标准品浓度和吸光值，制作蛋白浓度标准曲线；

8. 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 $\mu\text{g/ml}$ ；反应总体积：220 μl ）

1. 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 Solution A和BCA Solution B的量。

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

| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--|----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| BCA Protein Standard (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 ($\mu\text{g/ml}$) | 0 | 100 | 200 | 400 | 800 | 1200 | 1600 | 2000 |

3. 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。

4. 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 $\mu\text{g/ml}$ ；反应总体积：210 μl

5. 向各孔中加入200 μl BCA工作液，均匀混合；

6. 96孔板用封板膜封好，37 $^{\circ}\text{C}$ 放置30 min后，自然冷却至室温；

7. 使用酶标仪测定562 nm波长（或540-590 nm波长）下的吸光值；

8. 根据蛋白标准品浓度和吸光值，制作蛋白浓度标准曲线；

9. 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】

1. BCA 蛋白浓度测定的显色反应依赖于 Cu^{2+} 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 或采用稀释、透析、TCA 沉淀等方法去除上述干扰物质。

2. 反应温度和时间也可根据实验需要作如下调整：

a. 室温反应：25 $^{\circ}\text{C}$ 放置 2 h（线性范围：20-2000 $\mu\text{g/ml}$ ） b. 增强反应：60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴放置 30 min（线性范围：5-250 $\mu\text{g/ml}$ ）

注：反应时间越长或反应温度越高，A562nm 测量值越高，但会导致检测灵敏度降低、线性范围缩小。

3. 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% | 0.1M | 5% | 1M | 0.1M | 5% |
| 化学物质 | NP-40 | SDS | DTT | EDTA | Urea | Guanidine HCl | $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ |
| 可接受浓度 | 5% | 5% | 1 mM | 10 mM | 3M | 4M | 1.5M |

【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。