

仅供科研使用

版本号：A 版

BCA 蛋白定量试剂盒（增强型）

【货号】 BI-WB005**【规格】** 200T / 250T / 500T / 2500T / 5000T / B（蛋白标准品（5mg/mL））**【保存】** 10~30°C保存，12个月。蛋白标准溶液配制后需-20°C保存。**【产品组成】**

Component	200T	250T	500T	2500T	5000T	Store at
试剂（A）:BCA 试剂 A	40mL	50mL	100mL	500mL	1000mL	10~30°C
试剂（B）:BCA 试剂 B	1.2mL	1.5mL	3mL	15mL	30mL	10~30°C
试剂（C）:蛋白标准（BSA）	20mg	20mg	20mg	30mg	30mg×2	10~30°C
试剂（D）:蛋白标准配制液	1mL	1mL	1mL	1.5mL	5mL	10~30°C

【产品简介】

BCA 蛋白定量是最常用的蛋白浓度检测方法，其与传统方法相比，更简单、更稳定、更灵敏度。BCA 法测定蛋白浓度受其他成分影响小，对于 5%以内的 SDS、TritonX-100、Tween20、Tween80 均具有很好的兼容性,但易受螯合剂、高浓度的还原剂等的影 响。所以，在 BCA 法测定蛋白浓度前应使蛋白溶液中的 EDTA 浓度 $\leq 10\text{mM}$ ，DTT 浓度 $\leq 1\text{mM}$ ，2-ME $\leq 0.01\%$ 。

BCA 蛋白定量试剂盒在 50~1000 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内有较好的线性关系，其最小检出量为 25 $\mu\text{g/mL}$ 。本试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

【使用方法】

1、取 1mL 蛋白标准配制液完全加入到含有 20mg 的蛋白标准（BSA）中，充分溶解，后配制成 20mg/mL 的蛋白标准溶液，配制后可立即使用，配制的蛋白标准溶液应-20℃保存。

2、取适量的 5mg/mL 蛋白标准溶液，稀释至终浓度为 500 μ g/mL 或所需浓度。如取 100 μ L 5mg/mL 蛋白标准，加入 900 μ L 稀释液，充分混匀，即配制成 500 μ g/mL 蛋白标准溶液。

3、根据样品数量，按试剂（A）:试剂（B）=50:1 的比例配制 BCA 工作液，即取 50 份 BCA 试剂 A 和 1 份 BCA 试剂 B，充分混匀，即获得 BCA 工作液。例如取 5mL BCA 试剂 A 和 0.1mL BCA 试剂 B，配制成 5.1mL BCA 工作液，BCA 工作液室温 24h 内稳定。

4、将 500 μ g/mL 蛋白标准溶液按 0、1、2、4、8、12、16、20 μ L 加到 96 孔板或 EP 管中，加稀释液补足至 20 μ L，其蛋白标准浓度依次为 0、25、50、100、200、300、400、500 μ g/mL。

5、加 20 μ L 待测蛋白到 96 孔板或 EP 管中，如果样本不足 20 μ L，用稀释液补足至 20 μ L。注意：如果标准品稀释液与溶解待测蛋白的溶液不同，应在待测蛋白中加入 20 μ L 稀释液；如果标准品稀释液与溶解待测蛋白样本的溶液相同，无需在待测蛋白室白样本孔中加入 20 μ L 稀释液，以减少不同溶液的差异。

6、各孔或管加入 200 μ L 配制好的 BCA 工作液，37℃孵育 20~30min。

7、酶标仪或分光光度计测定 562nm 波长处吸光度（如无 562nm，540~595nm 之间的波长也可），各孔或管吸光度减去未加 500 μ g/mL 蛋白标准溶液的吸光度，以求得的差值为纵坐标，以标准孔或管中蛋白浓度（ μ g/mL）为横坐标，得出标准曲线及回归方程，根据标准曲线计算出待测样品的蛋白浓度。

【注意事项】

1、如果检测效果不佳，可以室温放置 2h 或 60℃放置 30min，颜色会随着时间的延长不断加深。显色反应也会随温度升高而加快；如果浓度较低，可以适当延长孵育时间或在较高温度下孵育。

2、测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加吸光度或颜色没有明显变化，可能的原因是样品中含有严重干扰 BCA 法测定蛋白浓度的物质。

3、BCA 法检测中样本中不应含有 EDTA，否则影响检测结果。

4、因 BCA 法测定时颜色会随着时间的延长不断加深，建议每次测定时都做标准曲线，并且显色反应的速度和温度有关，所以除非精确控制显色反应的时间和温度，否则每次都做标准曲线。

5、如果没有酶标仪，也可以使用普通分光光度计测定，但应考虑根据比色皿的最小检测体积。应按比例适当加大 BCA 工作液的用量使总体积不小于最小检测体积，样品和标准品的用量亦相应按比例放大；使用分光光度计测定蛋白浓度时，可以测定的样品数量可能会显著减少。

6、为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当加热，但是切勿过热，否则易失效。

7、为保证蛋白的精确定量，样品的提取和标准蛋白的配制最好选用相同的缓冲液，同时也要保证两者检测条件的一致性。如果缓冲液本身就有较高的背景值，建议使用其他的方法测定。

8、试剂（C）:蛋白标准（BSA）宜保存于 10~30°C 阴凉处，避免暴晒。

9、本产品仅限于专业人员的科学研究用，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。

10、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。