

产品说明书

BCA 蛋白定量检测试剂盒

产品货号: B6167

产品规格: 500T

产品内容:

组分	规格	B6167 (500T)
A. BCA Reagent A		100 mL
B. BCA Reagent B		2×1.5 mL
C. BSA蛋白标准品 (2 mg/mL)		2×1 mL

储存条件

4 °C保存

产品介绍

BCA 蛋白定量检测试剂盒是一种基于二喹啉甲酸 (BCA)，利用比色法测定总蛋白浓度的蛋白定量试剂盒。原理为在碱性介质中，蛋白质可将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ 。BCA 试剂和亚铜离子整合形成紫色显色物质，在 562 nm 处具有很强的吸光值。利用吸光值和蛋白浓度的线性关系，推算出蛋白浓度。

UElandy 提供的 BCA 蛋白定量检测试剂盒可检测 20-2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围的蛋白质浓度，且不受绝大部分样品中去污剂等化学物质的影响，如可以兼容样品中高达 5% 的 SDS，5% 的 Triton X-100，5% 的 Tween-20。在测定范围内有良好的线性关系，变异系数小。

使用方法

一、BSA 标准品准备

按下表配制梯度稀释的 BSA 标准品。

管号	稀释液体积 (μL)	BSA 体积 (μL) 和来源	BSA 终浓度 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
A	0	100 (BSA 原液)	2
B	40	120 (BSA 原液)	1.5
C	100	100 (BSA 原液)	1
D	50	50 (B 管稀释液)	0.75
E	100	100 (C 管稀释液)	0.5
F	100	100 (E 管稀释液)	0.25
G	100	100 (F 管稀释液)	0.125



H	100	100 (G 管稀释液)	0.0625
空白对照	100	0	0

二、BCA 工作液配制

根据所测样品和标准品的数量，将 50 份 BCA 试剂 A 与 1 份 BCA 试剂 B 充分混匀（50：1），制备工作液。

注：当试剂 B 加入到试剂 A 中时，可能有浑浊产生，经搅拌后迅速消失，得到苹果绿色工作液。工作液储存于密闭容器中，在室温下可稳定保存 24 h。

三、蛋白浓度测定（96 孔板举例）

1. 每孔加入 200 μ L BCA 工作液。
2. 将稀释好的 BSA 标准品和待测样品各 20 μ L 加入到孔板中（用加样枪轻轻吹打混匀，注意不要产生气泡）。
3. 37°C 孵育 30 min。冷却至室温后，用酶标仪测定 562 nm 的吸光值或该波长附近（540 nm-590 nm）的吸光值。
4. 绘制标准曲线，计算待测样品的蛋白浓度。

注：如有个别标准品吸光值偏离较大，应在绘制标准曲线时去除。如待测样品浓度超出测量上限（2000 μ g/mL），应稀释后重新设置标准曲线进行测定。

附表一 干扰物质耐受浓度

干扰物质	耐受浓度	干扰物质	耐受浓度
Ammonium sulfate	1.5 M	Deoxycholic acid	5%
EPPS, pH 8.0	100 mM	NP-40	5%
Glycine·HCl,pH2.8	100 mM	SDS	5%
Guanidine·HCl	4 M	Triton X-100	5%
HEPES, pH 7.5	100 mM	Tween-20	5%
Imidazole, pH 7.0	50 mM	EDTA	10 mM
MOPS, pH7.2	100 mM	DTT	1 mM
PIPES, pH6.8	100 mM	Glucose	10 mM
Sodium azide	0.2%	2-Mercaptoethanol	0.01%
Sodium bicarbonate	100 mM	DMSO	10%
Sodium chloride	1 M	Ethanol	10%
Tris	250mM	Glycerol	10%

注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
2. 在条件允许时，每个 BSA 标准品和待测样品均建议测定 ≥ 2 个平行反应（副孔），以提高测量的准确性。
3. 每次测定样品浓度时，均应绘制标准曲线，使测量结果准确。
4. 试剂 A 在使用前需摇晃匀混。
5. 用同一种稀释液稀释蛋白标准品和待测样品（建议 0.9% NaCl 或 PBS），以保证结果的准确性。
6. 使用前请参照附表一，确定待测样品中无超出耐受浓度的干扰物。



