

BCA 蛋白浓度测定试剂盒

货号	规格
BTYA0301-200T	50mlA+2mlB

储存：本试剂盒常温保存。试剂盒内的 BSA 标准品，请放-20 °C 保存。

一、产品原理

BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (BCA Protein Assay Kit) 是进行蛋白质浓度测定的最常见的方法之一。

BCA 蛋白浓度测定的主要原理是：蛋白质在碱性条件下，可以将二价 Cu^{2+} 离子还原成一价 Cu^{+} 离子。产生的一价 Cu^{+} 离子可以与 BCA (Bicinchoninic acid) 试剂结合，最终生成紫色的复合物。该复合物在 562 nm 处有很强的吸收峰。复合物的多少与蛋白质的浓度呈接近的线性关系。

二、产品优点

BCA 蛋白浓度测定试剂盒有许多优点：

1. 检测的灵敏度高，检测的蛋白质浓度下限可达 $20 \mu\text{g/mL}$ 。
2. 线性范围广，在 $20 - 1000 \mu\text{g/mL}$ 的范围内，呈接近的线性关系。
3. 兼容性良好，产品可以兼容的化学物质非常广泛（详细的兼容情况见附录）。

三、产品组成

1. BCA 试剂 A:
2. BCA 试剂 B:
3. 蛋白标准品 (BSA, 2 mg/mL) :

四、使用方法

1. BCA 工作液的配制

(1) BCA 工作液总体积的计算：

BCA 工作液总体积 = (标准品数量+待测样品数量+1) × 重复数 × $200 \mu\text{L}$ 。



举例：如果标准品数量为 7，待测样品数量 1，重复数为 3，则 BCA 工作液总体积 = $(7+1+1) \times 3 \times 200 \mu\text{L} = 5400 \mu\text{L}$

(2) BCA 工作液的配制：按 50 体积的 BCA 试剂 A 中加入 1 体积的 BCA 试剂 B (A:B=50:1)，充分混匀。

举例：将 5000 μL 的 BCA 试剂 A 与 100 μL 的 BCA 试剂 B 混合，得到 5100 μL 的 BCA 工作液。

2. BSA 标准品的配制

将 BSA 标准品做系列稀释，分别得到如下 7 个不同浓度的标准品：1000 $\mu\text{g/mL}$ ，500 $\mu\text{g/mL}$ ，250 $\mu\text{g/mL}$ ，125 $\mu\text{g/mL}$ ，62.5 $\mu\text{g/mL}$ ，31.25 $\mu\text{g/mL}$ ，0 $\mu\text{g/mL}$ 。

注：严格的蛋白定量，BSA 标准品的稀释溶液应该与待测蛋白样品的溶液相同。但是一般情况下，BSA 标准品可以直接用 0.9% 的 NaCl、PBS 或者去离子水进行稀释。

3. 取 BSA 标准品和待测样品各 25 μL 到 96 孔板孔内，

注：正常情况下，样品与 BCA 工作液的体积之比应为 1:8。如果样品体积有限，也可使用 10 μL BSA 标准品和待测样品进行检测（即样品与 BCA 工作液的体积之比为 1:20），这时 BCA 蛋白浓度测定试剂盒的检测范围较小为 125-1000 $\mu\text{g/mL}$ 。

4. 往每孔中加入 200 μL 的 BCA 工作液，盖上 96 孔板盖子。

5. 将 96 孔板放 37 $^{\circ}\text{C}$ ，30 分钟。

6. 用酶标仪测 562 nm 处的光吸收值。

注：562 nm 为最强的光吸收波长。如果无法检测 562 nm 处的光吸收值，也可以在 540~595 nm 波长范围内检测光吸收值。

7. 根据 BSA 标准品的光吸收值（扣除空白孔的光吸收值即为最终的读数），绘制标准曲线。依据标准曲线计算待测样品的蛋白浓度。

五、注意事项

1. 以上使用方法是根据 96 孔板进行设计的。此试剂盒也可以使用分光光度计进行测量。如果使用分光光度计测量 562 nm 处的光吸收值，则 BSA 标准品和待测样品的体积使用量应调整为 0.1 mL，而 BCA 工作液的使用量应调整为 2 mL。

2. 使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒进行蛋白定量时，颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应的速度和温度有关。

3. 每次蛋白浓度测定都需要重新做新的标准曲线，因为显色反应的颜色与温度和时间有关。

4. BCA 试剂如果有细菌污染，则不能再使用。