



BCA 蛋白定量试剂盒

BCA Protein Assay Kit

产品信息:

试剂盒组成	保存	PA101-01 500 次
蛋白标准(5mg/ml BSA)	-20℃	0.5ml
Solution A	室温	50ml×2
Solution B	室温	1ml×2

保存条件:

本产品收到后按照上面指示温度存放各成份, 至少一年内有效。蛋白标准-20℃长期保存, 常温运输。

产品介绍:

BCA(bicinchoninic acid)法蛋白浓度定量试剂盒是常用的蛋白浓度检测方法之一。BCA 法基础上改进而成。原理是在碱性的条件下, 蛋白质中的肽键能将 Cu^{2+} 还原成 Cu^{+} (双缩脲反应), 且 Cu^{2+} 的还原量与总蛋白量成正比, 生成的 Cu^{+} 和独特的 BCA Solution A (含有 BCA) 相互作用形成紫色复合物。两分子的 BCA 螯合一个铜离子形成复合物, 该水溶性的复合物在 562nm 处显示强烈的吸光性, 吸光度和蛋白浓度在广泛范围内有良好的线性关系, 因此根据吸光值可以推算出蛋白浓度。

产品特点:

1. 操作简单, 45min 内完成测定, 比经典 Lowry 法快 4 倍而且更加方便。
2. 灵敏度高, 检测浓度下限达到 $25\mu\text{g/ml}$, 最小检测蛋白量达到 $0.5\mu\text{g}$, 待测样品体积为 1-20 μl 。
3. BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的去污剂等化学物质的影响, 可以兼容样品中高达 5% 的 SDS, 5% 的 Triton X-100, 5% 的 Tween 20, 60, 80。
4. 在 20-2000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内有良好的线性关系。
5. 在测定范围内有较好的线性关系, 变异系数小。

注意事项:

1. 蛋白标准请在**全部溶解后先混匀, 再稀释**成一系列不同浓度的蛋白标准。标准品曲线配制时, 如果吸量不准确或者加样枪不精确会造成标准曲线相关系数减小, 可根据需要使用倍比梯度稀释的方法来配制, 或者使用精确度高的加样枪。

2. Solution A 和 Solution B 混合成工作液时可能会出现浑浊，但充分振荡混匀后就会消失，成为淡绿色的透明溶液。
3. 酶标仪的测定波长为 540-590nm 之间，562nm 最佳；需 96 孔板。如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但是测定蛋白浓度时，需根据测定吸光度的杯子的体积，按比例调整 A 液，B 液和样品的体积。使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
4. BCA 蛋白定量试剂盒受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保无 EDTA，EDTA 低于 10mM，二硫苏糖醇低于 1mM， β -巯基乙醇低于 1mM。不适用 BCA 法时建议使用 Bradford 法蛋白定量试剂盒。还可以考虑用超纯水稀释，透析/除盐，ACETONE/TCA 沉淀蛋白后重溶于超纯水等方法来消除干扰物质的影响。
5. 为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当用微波炉加热，但是切勿过热。
6. 如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，请试用 Bradford 法蛋白定量试剂盒。

操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

1. 使用时将 Solution A 摇晃混匀，根据样品数量，按 50 体积 Solution A 加 1 体积 Solution B (50:1) 配制适量 BCA 工作液，充分混匀。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。
2. 完全溶解蛋白标准品(5mg/mlBSA)，取 **10 μ l 稀释至 100 μ l**，使终浓度为 0.5mg/ml。蛋白样品在什么溶液中，蛋白标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 稀释蛋白标准品。
3. 步骤 3：将**稀释后标准品（0.5mg/mlBSA）**按 0，1，2，4，8，12，16，20 μ l 分别加到 96 孔板中，不足 20 μ l 体积的加标准品稀释液**补足至 20 μ l**。
4. 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中，加标准品稀释液补足到 **20 μ l**。
5. 各孔加入 **200 μ l** BCA 工作液，用加样枪轻轻吹打混匀（注意不要弄出气泡影响读数）37℃放置 30-60min。

注：也可以根据需要在室温放置 2h，或 60℃放置 30min。BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度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，或延长孵育时间。

6. 冷却到室温后，用酶标仪测定 A562，或 540-590nm 之间的其它波长的吸光度。
7. 根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。