



BCA 蛋白浓度测定试剂盒

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-500T
MCK-0029	BCA 试剂 A	100 mL
	BCA 试剂 B	3 mL
	蛋白标准(BSA)	30 mg
	蛋白标准配制液	1.5 mL
	说明书	1 份

产品简介

BCA 蛋白浓度测定试剂盒(BCA Protein Assay Kit)是根据目前世界上最常用的两种蛋白浓度检测方法之一 BCA 法研制而成,实现了蛋白浓度测定的简单、高稳定性、高灵敏度和高兼容性。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 $1\text{--}20 \mu\text{L}$ 。在 $50\text{--}2000 \mu\text{g/mL}$ 浓度范围内有较好的线性关系。

BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响,可以兼容样品中高达 5% 的 SDS, 5% 的 Triton X-100, 5% 的 Tween 20、60、80。但本试剂盒受整合剂和略高浓度的还原剂的影响,需确保 EDTA 低于 10mM ,无 EGTA,二硫苏糖醇(DTT)低于 1mM β -巯基乙醇(β -Mercaptoethanol)低于 0.01%。不适用 BCA 法时建议试用本公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。

保存条件

溶液 A 和溶液 B 在 4°C 环境下保存,BSA 蛋白标准配制成溶液后在 -20°C 环境下保存,保质期 2 年。

注意事项

1. 需酶标仪一台,测定波长为 $540\text{--}595\text{nm}$ 之间, 562nm 最佳。
2. 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,但测定时,需根据比色皿的最小检测体积,适当加大 BCA 工作液的用量使不小于最小检测体积,样品和标准品的用量可相应按比例放大,也可不变。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。
3. 如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景,请试用本公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。
4. 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。
5. EDTA 浓度必须小于 10mM ,不兼容 EGTA。不适用 BCA 法时,请试用本公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 蛋白标准品的准备

(1) 取 0.8mL 蛋白标准配制液加入到一管蛋白标准(20mg BSA)中,充分溶解后配制成 25mg/mL 的蛋白标准溶液。配制后可立即使用,也可以 -20°C 长期保存。

(2) 取适量 25mg/mL 蛋白标准,稀释至终浓度为 0.5mg/mL 。例如取 $20 \mu\text{L}$ 25mg/mL 蛋白标准,加入 $980 \mu\text{L}$ 稀释液即可配制成 0.5mg/mL 蛋白标准。蛋白样品在什么溶液中,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 稀释标准品。稀释后的 0.5mg/mL 蛋白标准可以 -20°C 长期保存。

2. BCA 工作液配制

根据样品数量,按 50 体积 BCA 试剂 A 加 1 体积 BCA 试剂 B(50:1)配制适量 BCA 工作液,充分混匀。例如 5mL BCA 试剂 A 加 $100 \mu\text{L}$ BCA 试剂 B,混匀,配制成 5.1mL BCA 工作液。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。

3. 蛋白浓度测定

(1) 将标准品按 0、1、2、4、8、12、16、 $20 \mu\text{L}$ 加到 96 孔板的标准品孔中,加标准品稀释液补足到 $20 \mu\text{L}$,相当于标准品浓度分别为 0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、 0.5mg/mL 。

(2) 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 $20 \mu\text{L}$,需加标准品稀释液补足到 $20 \mu\text{L}$ 。请注意记录样品体积。

(3) 各孔加入 $200 \mu\text{L}$ BCA 工作液, 37°C 放置 20-30 分钟。

注: 也可以室温放置 2 小时,或 60°C 放置 30 分钟。BCA 法测定蛋白浓度时,颜色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,或适当延长孵育时间。

(4) 用酶标仪测定 A_{562} ,或 $540\text{--}595\text{nm}$ 之间的其他波长的吸光度。

(5) 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度。