

BCA 蛋白定量试剂盒

目录号

GAS10010

产品组成

| 组分 | 规格 (500 次) |
|------------------------|--------------|
| 蛋白标准品 (BSA 25 mg/mL) | 1.2 mL |
| Solution A | 2 × 50 mL |
| Solution B | 2 × 1.5 mL |

保存条件

蛋白标准品 (BSA 25 mg/mL) -20°C保存，其余试剂室温保存，有效期一年。

产品简介

BCA 蛋白定量法是目前应用极为广泛的蛋白定量方法。本产品是在 BCA 蛋白定量法的基础上研制而成的增强型 BCA 蛋白定量试剂盒，实现了对蛋白质浓度测定的简便性、高稳定性、高灵敏度和高兼容性。与普通 BCA 蛋白定量试剂盒相比，其灵敏度更高，检测浓度下限达到 10 $\mu\text{g/mL}$ ，最小检测蛋白量达到 0.2 μg ；显色速度更快，相同的样品孵育较短时间即可进行吸光度测定。

产品特点

- 灵敏度高：检测浓度下限达到 10 $\mu\text{g/mL}$ ，最小检测蛋白量达到 0.2 μg ，待测样品体积为 1~20 μL ；
- 显色速度快：相同的样品孵育较短时间即可进行吸光度测定；
- 兼容性好：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 5% 的 SDS，5% 的 Triton X-100，5% 的 Tween20、60、80；
- 在 20~1000 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内有良好的线性关系；
- 检测不同蛋白质分子的变异系数远小于考马斯亮蓝法蛋白定量。

适用范围

本产品仅供科研使用



适用于常规裂解液提取的蛋白样品的浓度测定。

注意事项

1. 本产品进行蛋白定量时需酶标仪一台，测定波长在 540~595 nm 之间，562 nm 最佳。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，适当增加 BCA 工作液的用量使其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。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；
2. 本产品受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保无 EGTA，EDTA 低于 10 mM，二硫苏糖醇（DTT）低于 1 mM， β -巯基乙醇低于 0.01%。不适用 BCA 法时建议使用其他方法测定；
3. 若样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，请使用其他方法测定蛋白浓度。

使用方法

1. 蛋白标准品的配制

取适量 25 mg/mL 蛋白标准品，稀释至终浓度为 0.5 mg/mL。例如取 20 μ L 25 mg/mL 蛋白标准品，加入 980 μ L 稀释液即可配制成 0.5 mg/mL 蛋白标准品。

注：建议蛋白标准品所用稀释液与待测蛋白样品所用稀释液一致。为方便起见，也可以用 0.9% NaCl 或 PBS 缓冲液稀释标准品。

2. BCA 工作液的配制

根据样品数量，按照 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。例如 5 mL Solution A 加 100 μ L Solution B，混匀，配制成 5.1 mL BCA 工作液。BCA 工作液室温 24 h 内稳定。

3. 蛋白浓度的测定

- a. 将稀释后标准品（BSA 0.5 mg/mL）按 0，1，2，4，8，12，16，20 μ L 分别加到 96 孔板中，加标准品稀释液补足到 20 μ 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、0.5 mg/mL。
- b. 加适当体积的待测蛋白样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 20 μ L，需加标准品稀释液补足到 20 μ L。请注意记录样品体积。
- c. 各孔加入 200 μ L BCA 工作液，吹打混匀（注意不要弄出气泡影响读数），37°C 放置 30~60 min。
注：也可以室温放置 2 h，或 60°C 放置 30 min。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。如果蛋白浓度较低，适合在较高温度孵育，或适当延长孵育时间。
- d. 用酶标仪测定 A562，或 540~595 nm 之间的其他波长的吸光度。
- e. 根据标准曲线和使用的待测蛋白样品体积计算出待测样品的蛋白浓度。

常见问题与解决办法

Q1：测定标准曲线时，发现随着标准品浓度的增加，其吸光值或颜色没有明显变化？

A1：

可能是所使用的标准品稀释液中含有严重干扰 BCA 法测定蛋白浓度的物质。建议将稀释液做本底对照，查看吸光值。

Q2：每次测定蛋白浓度时都需要做标准曲线吗？

A2：

建议每次测定时都做标准曲线。因为 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。所以除非精确控制显色反应的时间和温度，否则每次测定蛋白浓度都应该做标准曲线。