

BCA蛋白浓度测定试剂盒

【产品简介】 碱性条件下，蛋白将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ， Cu^+ 与 BCA 试剂形成紫色的络合物，测定其在 562nm 处的吸收值，并与标准曲线对比，即可计算待测蛋白的浓度。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。本试剂盒检测浓度下限达到 25 $\mu\text{g/ml}$ ，最小检测蛋白量达到 0.5 μg ，待测样品体积为 1-20 μl 。在 50-2000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内有较好的线性关系。

【货 号】 P1003

【规 格】 500次

【包装清单】

产品编号	产品名称	包装
P1003-1	BCA试剂A	100ml
P1003-2	BCA试剂B	3ml
P1003-3	蛋白标准（BSA）	30mg
P1003-4	蛋白标准配制液	1.5ml
-	说明书	1份

【保存条件】 室温保存，蛋白标准配制成溶液后 -20℃ 分装冻存。

【使用说明】

1、蛋白标准品的准备

A、取 1.2ml 蛋白标准配制液加入到一管蛋白标准 (30mg 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℃ 长期保存。

B、取适量 25mg/ml 蛋白标准，稀释至终浓度为 0.5mg/ml。例如取 20 μl 25mg/ml 蛋白标准，加入 980 μl 稀释液即可配制成 0.5mg/ml 蛋白标准（现配现用或者 -20℃ 保存）。蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释，也可以用 0.9% NaCl 或 PBS 稀释标准品。

2、BCA工作液配制

A、计算所需要的总 BCA 工作液体积。总 BCA 工作液体积 = (标准品 + 待测样品) × 重复数 × 每个样品所需要的 BCA 工作液。

B、按**50**体积BCA试剂A加**1**体积BCA试剂B(**A:B=50:1**)配制适量BCA工作液，充分混匀。(例如5ml BCA试剂A加100 μ l BCA试剂B，混匀，配制成5.1ml BCA工作液。BCA工作液密封室温24小时内稳定)

3、蛋白浓度测定

A、将标准品按0、1、2、4、8、12、16、20 μ l加到96孔板的标准品孔中，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、0.5mg/ml。

管号	0.5mg/mlBSA	稀释液体积 (ul)	BSA终浓度 (mg/ml)
A	20	0	0.5
B	16	4	0.4
C	12	6	0.3
D	8	12	0.2
F	4	16	0.1
G	2	18	0.05
H	1	19	0.025
I	0	20	0=Blank

B、加适当体积样品到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。

C、各孔加入200 μ l BCA工作液，37°C放置20-30分钟，也可以在室温放置2小时，或60°C放置3分钟。

D、用酶标仪测定A562或540-595nm之间的其他波长的吸光度,562nm最佳。

E、根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度。

【注意事项】

- 1、本试剂盒可以兼容样品中高达 5%的 SDS，5%的 Triton X-100，5%的 Tween20、60、80。但本试剂盒受螯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%。
- 2、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。
- 3、低温或长期保存，若发现BCA试剂A或者试剂B有沉淀发生，请 37°C温育并伴随搅拌促使其充溶解。如发现细菌污染，则应丢弃，避免对实验结果造成影响
- 4、为了您的身体安全及健康，请穿实验服及佩戴一次性手套操作。
- 5、本产品仅限于科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。