

## BCA 蛋白定量试剂盒

### BCA Protein Quantitation Assay Kit

#### 产品信息

产品名称	编号	规格
BCA 蛋白定量试剂盒	DY30204	500 T

#### 产品描述

BCA 蛋白定量试剂盒 (BCA Protein Quantitation Assay Kit) 是根据最常用的 BCA 蛋白浓度检测法研制而成, 实现了蛋白浓度测定的简单化、稳定性高、灵敏度高、兼容性好。最小检测浓度达到 25  $\mu\text{g/mL}$ , 最小检测蛋白量达到 0.5  $\mu\text{g}$ , 样品体积为 1-20  $\mu\text{L}$ 。在 50-2000  $\mu\text{g/mL}$  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 TritonX-100, 5% 的 Tween20、Tween60、Tween80。但受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响, 需确保 EDTA 低于 10 mM, 无 EGTA, 二硫苏糖醇低于 1 mM,  $\beta$ -巯基乙醇低于 0.01%。

#### 产品组成

货号	名称	规格
DY30204-A	BCA 蛋白定量 A 液	100 mL
DY30204-B	BCA 蛋白定量 B 液	4 mL
DY30204-C	5 mg/mL BSA	1 mL

#### 保存方式

BSA 蛋白标准液-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 其它组分 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 有效期 12 个月。

#### 操作说明

##### 1. 比色皿检测方法

- 1) 取适量 5 mg/mL BSA 标准品稀释至 0.5 mg/mL。可用蒸馏水或 PBS 稀释。
- 2) 根据样品数量, 配置 BCA 工作液, 50 体积的溶液 A 匹配 1 体积的溶液 B。室温稳定 24 h。
- 3) 用与待测样本相一致的稀释液按照下表配置 BSA 标准品。

BSA 标准品体系配制

Vial	稀释液体积 ( $\mu\text{L}$ )	0.5 mg/mL BSA 体积 ( $\mu\text{L}$ )	BSA 终浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	0	200	500
2	40	160	400
3	80	120	300
4	120	80	200

5	160	40	100
6	200	0	0

- 4) 取干净的试管，分别加入 200  $\mu\text{L}$  待测蛋白样品，并做好标记，推荐每个样品做 2-3 个平行反应。
- 5) 在每个标准品及待测样品管中分别加入 2 mL BCA 工作液，37°C 放置 20-30 min。也可室温孵育 2h，或者 60°C 孵育 30 min。BCA 检测蛋白浓度，延长孵育时间会加深颜色反应。升高温度会加快显色反应。但是温度升高和时间延长会降低检测下限，以及降低工作线性范围。若蛋白浓度很低，可在较高温度孵育或者适当延长孵育时间。
- 6) 冷却到室温，在 562 nm 处测其吸光度值，可检测范围为 540-595 nm。
- 7) 制作标准曲线，计算样品中的浓度。计算样品中蛋白浓度，如果所得到的蛋白浓度不在检测范围内，请稀释样品或重新提取。

## 2. 微孔板检测方法

- 1) 标准样品的配置和 BCA 工作液的配置如上。
- 2) 用与待测样本相一致的稀释液按照下表配置 BSA 标准品。

BSA 标准品体系配制

Vial	稀释液体积 ( $\mu\text{L}$ )	0.5mg/mL BSA 体积 ( $\mu\text{L}$ )	BSA 终浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	0	20	500
2	4	16	400
3	8	12	300
4	12	8	200
5	16	4	100
6	20	0	0

- 3) 在微孔板的空中加入 20  $\mu\text{L}$  待测样品，每个样本 2-3 个平行重复。
- 4) 每孔加入 200  $\mu\text{L}$  BCA 工作液，振荡 30s 充分混匀。盖上微孔板，37°C 孵育 30 min。
- 5) 冷却到室温，在 562 nm 处测其吸光度值，可检测范围为 540-595 nm。
- 6) 绘制标准曲线，并计算 样品中的蛋白浓度，如果所得蛋白浓度不在检测范围，请稀释样品或重新提取。

### 注意事项:

1. 在低温条件或长期保存出现沉淀时，可搅拌或 30°C 温育溶解，若发现细菌污染则应丢弃。
2. 样品中若含有 EDTA, EGTA, DTT, 硫酸铵及脂类会影响结果，请用 Bardford 方法。高浓度的去垢剂也会影响实验结果，可用 TCA 沉淀去除干扰物质。

本产品仅作科研用途