

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	DY30205	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 10 $\mu\text{g/mL}$, 最小检测蛋白量达到 0.2 μg , 样品体积为 1-20 μL 。在 20-2000 $\mu\text{g/mL}$ 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, β -巯基乙醇低于 0.01%。

产品组成

货号	名称	规格
DY30205-A	BCA 试剂 A	100 mL
DY30205-B	BCA 试剂 B	3 mL
DY30205-C	5 mg/mL BSA	2 mL
DY30205-D	PBS 溶液	10ml

保存方式

BSA 蛋白标准品-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

BCA 工作液配制: 将试剂 A 和试剂 B 按照体积比 50:1 比例混合配成 BCA 工作液。取 50mL 试剂 A 与 1mL 试剂 B 混合, 配成 51mL BCA 工作液。两者混合时会有沉淀形成, 彻底混匀后沉淀消失。

1. 试管检测方法

- 1) 取 150ul 5 mg/mL BSA 标准品加入 600ul PBS 溶液稀释至 1 mg/mL。
- 2) 按照下表配置 BSA 标准测定溶液。
- 3) BSA 标准品体系配制

Vial	PBS 体积 (μL)	BSA 体积 (μL)	BSA 终浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	BSA 浓度 (mg/ml)
1	60	40	2000	5
2	70	30	1500	
3	0	100	1000	
4	25	75	750	1
5	50	50	500	
6	75	25	250	
7	87.5	12.5	125	
8	97.5	2.5	25	
9	100	0	0	

- 4) 取干净的试管, 分别加入 100 μ 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 $^{\circ}$ C 放置 30 min, 也可以室温放置 2 小时或 60 $^{\circ}$ 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。
- 6) 在 562 nm 处测其吸光度值, 并记录读数; 以不含 BSA 的样品的光吸收值作为空白对照。
- 7) 制作标准曲线并计算样品中的浓度。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。

1. 微孔板检测方法

- 1) 标准样品的配置和 BCA 工作液的配置与试管检测方法一致。
- 2) BSA 标准品体系配制

Vial	PBS 体积 (μ L)	BSA 体积 (μ L)	BSA 终浓度 (μ g/mL)	BSA 浓度 (mg/ml)
1	12	8	2000	5
2	14	6	1500	
3	0	20	1000	1
4	5	15	750	
5	10	10	500	
6	15	5	250	
7	17.5	2.5	125	
8	19.5	0.5	25	
9	20	0	0	

- 3) 在微孔板的孔中加入 20 μ L 待测样品, 每个样本 2-3 个平行重复。
- 4) 向微孔板中加入 200 μ L BCA 工作液混匀, 37 $^{\circ}$ C 放置 30 分钟, 也可以室温放置 2 小时, 或 60 $^{\circ}$ 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。
- 5) 测定 562 nm 处的吸光值, 并记录读数; 以不含 BSA 的样品的光吸收值作为空白对照。
- 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 $^{\circ}$ 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