

仅限科研

版本号：202301

BCA 蛋白定量试剂盒

产品内容

名称	货号	规格	保存
BCA 蛋白定量试剂盒	SDP0005	500T	4℃

产品组分及描述

组分	BCA-A 液	BCA-B 液	BSA Standard Solution (2mg/mL)
体积	100mL	3mL	10mL

本产品是基于目前广泛使用的 BCA (Bicin -chonic Acid) 实现了对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。其原理是在碱性环境下蛋白质分子中的肽链结构能与 Cu^{2+} 络合生成络合物，同时将 Cu^{2+} 还原成 Cu^{+} 。BCA 试剂可敏感特异地与 Cu^{+} 结合，形成稳定的有颜色的复合物，在 562 nm 处有高的光吸收值，颜色的深浅与蛋白质浓度成正比，可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量，测定范围为 20~2000 ug/mL。

操作流程

1.BSA 标准品的制备

按蛋白标准品与稀释液（0.9%NaCl 或 PBS）1 比 3 配置 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的蛋白标准品，如取 20 μL 蛋白标准品加入 60 μL 稀释液；按下表配制梯度稀释的 BSA 标准品。

管号	稀释液体积(μL)	0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 蛋白标准品体积(μL)	BSA 终浓度($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
A	0	25	0.5
B	5	20	0.4
C	10	15	0.3
D	15	10	0.2
E	20	5	0.1
F	22.5	2.5	0.05
G	23.75	1.25	0.025
I(空白对照)	25	0	0



2. BCA 工作液配制

根据所测样品和标准品的数量, 将 50 份 BCA 试剂 A 与 1 份 BCA 试剂 B 充分混匀 (50: 1), 制备工作液。

注: a. 当试剂 B 加入到试剂 A 中时, 可能有浑浊产生, 经搅拌后迅速消失, 得到苹果绿色工作液。

b. 工作液储存于密闭容器中, 在室温下可稳定保存 24 小时。

3. 蛋白浓度测定

a. 将稀释好的 BSA 标准品和待测样品各 25ul 加入到 96 孔板中, 待测样品浓度检测范围为 20-2000ug/ml。

注: 加入提取蛋白 5-25ul, 不足 25ul 加入稀释液 (0.9%NaCl 或 PBS) 补足 25ul。

b. 每孔加入 200ulBCA 工作液, 充分混匀。

c. 37 度孵育 30 分钟。冷却至室温后, 用酶标仪测定 562nm 或该波长附近 (540nm- 590nm) 的吸光值。

d. 绘制标准曲线, 计算待测样品的蛋白浓度。

注: 如有个别标准品吸光值偏离较大, 应在绘制标准曲线时去除。如待测样品浓度超出测量上限 (2000ug/ml), 应稀释后再次测定。

注意事项

1. 每次测定样品浓度时, 均应绘制标准曲线, 使测量结果准确。
2. 用同一种稀释液稀释蛋白标准品和待测样品 (建议 9%NaCl 或 PBS, 以保证结果的准确性)。
3. 在条件允许时, 每个 BSA 标准品和待测样品均建议测定两个平行反应 (复孔), 以提高测量的准确性。
4. 使用前请参照附表一, 待测样品中含较多的干扰物质 (具体见附表 1), 可采用 Bradford 法蛋白定量考马斯亮蓝 G250 或其他蛋白定量产品。

附表 1. 干扰物质表					
干扰物质	耐受浓度	干扰物质	耐受浓度	干扰物质	耐受浓度
Ammonium sulfate	1.5M	Deoxycholic acid	5%	Sodium azide	0.2%
EPPS, pH 8.0	100mM	NP-40	5%	Sodium bicarbonate	100mM
Glycine-HCl, pH2.8	100mM	SDS	5%	Sodium chloride	1M
Guanidine-HCl	4M	Triton X-100	5%	Tris	250mM
HEPES, pH 7.5	100mM	Tween-20	5%	2-Mercaptoethanol	0.01%
Imidazole, pH 7.0	50mM	EDTA	10mM	DMSO	10%
MOPS, pH7.2	100mM	DTT	1mM	Ethanol	10%
PIPES, pH6.8	100mM	Glucose	10mM	Glycerol	10%

