

产品简介

BCA Protein Assay Kit是根据目前世界上最常用蛋白浓度检测方法之一 BCA（Bicinchoninic Acid）法研制而成，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。其原理为在碱性条件下，蛋白质将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ， Cu^+ 与BCA试剂形成紫蓝色的络合物，在562nm处有最高吸收值，可在540-595nm测定其吸收值，颜色的深浅与蛋白质浓度成正比，通过与标准曲线对比，即可计算待测蛋白的浓度。本试剂盒含有牛血清白蛋白（BSA）溶液作为蛋白质标准品溶液，测定范围为20~2000 $\mu\text{g/ml}$ ，最小检测蛋白量达到0.5 μg ，待测样品体积为1~20 μl 。

产品组分

组分编号	组分名称	规格/ml
AQ526-01	BCA Reagent A	100
AQ526-02	BCA Reagent B	2.5
AQ526-03	BSA Standard Solution（2mg/ml）	2

储存条件

室温保存有效期12个月，如需保存更长时间请放2-8℃储存。

使用说明

一. 稀释BSA标准品：

取适量2mg/ml BSA蛋白标准品，稀释至终浓度为0.5mg/ml。稀释后的蛋白标准溶液可以-20℃长期保存。

例如：取25 μl 2mg/ml蛋白标准，加入75 μl 稀释液即可配制成100 μl 的0.5mg/ml蛋白标准溶液。



注： 蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。简便起见，也可以用1×PBS或稀0.9%生理盐水释标。

二. 配置BCA工作液：

根据样品数量，按50倍体积BCA Reagent A加入1倍体积BCA Reagent B (50:1)配制适量BCA工作液，充分混匀。新配BCA工作液室温24小时内稳定。

例如： 5ml BCA Reagent A加入100μl BCA Reagent B，混匀，配制成5.1ml BCA工作液。

注： BCA工作液总量=（BSA标准品样本个数+待测样本个数）×复孔数×每个样本BCA工作液体积。

三. 蛋白浓度检测：

1. 将稀释到0.5mg/ml 蛋白标准品按照下表加入到96孔板中，不足20ul 的加标准品稀释液补足到20μl。

孔号	稀释液体积 /μl	0.5mg/ml BSA 标准品体积/μl	BSA标准品 含量/μg	BSA标准品 终浓度μg/μl
A	20	0	0	0
B	19	1	0.5	0.025
C	18	2	1	0.05
D	16	4	2	0.1
E	12	8	4	0.2
F	8	12	6	0.3
G	4	16	8	0.4
H	0	20	10	0.5

2. 将20μl待测样品加入到96孔板的样品孔中，如果样品不足20μl，加标准品稀释液补足到20μl。

3. 每孔加入200μl BCA工作液，充分混匀，盖上96孔板盖子，37° C孵育30min。

注： 该步操作也可以选择室温放置2小时，或60° C放置30min。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，应适当延长孵育时间，或在较高温度孵育。

4. 用酶标仪在540-590 nm范围内，测定每个样品及BSA标准品的吸光值。

注： 由于吸光值会随着时间的延长不断加深。因此所有样品测定需在3-5min 内完成，否则会影响蛋白定量的准确度。

5. 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

注：

- a. 建议以去除背景值后的吸光值读数绘制标准曲线。
- b. 由于操作误差导致标准品读数严重偏离线性曲线的应舍去。
- c. 未知样品浓度可以从标准曲线方程中计算得出，实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。
- d. 如果得到的蛋白浓度不在检测范围内，请重新稀释样品后再次测定。

注意事项

1. 该产品仅限用于科学研究。
2. 建议每次测定样品时，都做标准曲线，以获得准确数据。因为BCA法测定时颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应的速度和温度有关。