

公司产品仅供科研研究使用、不得用于临床诊断！

商品属性：

产品名称	规格	货号
BCA Protein Assay Kit	50-500T	A-PJ1098

描述： BCA 蛋白质定量试剂盒(BCA Protein Assay Kit)是根据目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法之一——BCA（bicinchoninic acid）法改良研制而成，该试剂盒具有蛋白浓度测定的简单性，高稳定性，高灵敏度和高兼容性。本试剂盒的原理是蛋白质分子中的肽键结构在碱性环境下能与 Cu^{2+} 络合生成络合物，将 Cu^{2+} 还原成 Cu^{+} ，而 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，并在 562nm 处有最大光吸收值，该复合物颜色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的含量，1 小时内即可完成蛋白定量检测。本试剂盒含有牛血清白蛋白（BSA）溶液作为蛋白质标准溶液，测定范围为 25~2000 $\mu\text{g/ml}$ 。该试剂盒可用于 20 次试管检测或 200 次 ELISA 板检测。

操作方法

1. 标准品的稀释：按下表将 BSA 进行稀释。

管号 PBS

BSA 体积

（来源）

BSA 终浓度

（ $\mu\text{g/ml}$ ）

A 0 300 μl (母液) 2000

B 125 μl 375 μl (母液) 1500

C 325 μl 325 μl (母液) 1000

D 175 μl 175 μl (B 管) 750

E 325 μl 325 μl (C 管) 500

F 325 μl 325 μl (E 管) 250

G 325 μl 325 μl (F 管) 125

H 400 μl 100 μl (G 管) 25

I 400 μl 0 0

2. BCA 工作液的配置：根据样品数量及测定方法，将 BCA Reagent A 和 BCA Reagent B 按体积比 50:1 充分混匀即可。

注意：配制 BCA 工作液前请将 BCA Reagent A 混匀。

3. 标准比色杯测定方法

(1)吸取 0.1 ml 的各标准品和待测样品置于合适的管中。

(2)加入 2 ml BCA 工作液，充分混匀。

(3)37°C 孵育 30 min，然后室温静置 10 min。

(4)紫外分光光度计于 562 nm 处检测吸光度。

(5)绘制标准曲线。

(6)根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

4. 微管测定方法

(1)分别取 25 μl 新鲜配制的 BSA 标准液和待测样品，加入到 ELISA 反应板中。

(2)每孔加入 200 μl BCA 工作液，充分混匀。

(3)37°C 孵育 30 min，然后室温静置 10 min。

(4)酶标仪于 562nm 处检测吸光度。

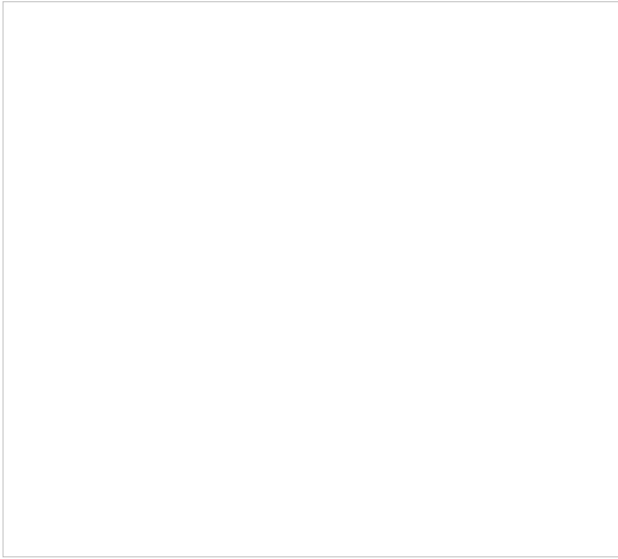
(5)绘制标准曲线。

(6)根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

注意事项

1. 待测样品浓度在 25~2000 $\mu\text{g/ml}$ 的范围内具有良好的线性关系。

2. BCA 工作液配制后 24 小时内使用效果稳定。
3. BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度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，或延长孵育时间。
4. 使用普通的分光光度计测定时，需根据比色皿的最小检测体积，适当加大 BCA 工作液的用量，使其不小于最小检测体积，样品和标准品的用量可相应按比例调整。
5. 适用范围



实例操作 按上述操作方法可得到如下标准工作曲线，该线性方程经过多次绘制，系数均为 0.0001，且 R² 值均在 0.99~1 之间，重复性好，在计算蛋白浓度时可直接用该标准工作曲线进行计算。例如：在 562 nm 处检测吸光值为 0.1，则此时 y 值为 0.1，代入方程 $y=0.0001x$ 中，可得蛋白浓度为 1000 $\mu\text{g/ml}$ 。

□