

BCA蛋白定量检测试剂盒 (BCA Protein Assay Kit)

产品信息：

产品货号	B00101-100 (500T)	B00101-250 (1250T)	B00101-500 (2500T)
BCA Solution A	100μl	250μl	500μl
BCA Solution B	3μl	7.5μl	15μl
蛋白标准品(BSA)	5×1μl (2mg/ml)	5×1μl (2mg/ml)	5×2μl (2mg/ml)

运输与保存方法：

室温运输。试剂盒室温保存即可，长期不用的蛋白标准品（BSA）也可放到4°C保存，有效期12个月。

产品描述：

BCA法是目前应用比较广泛的蛋白质浓度定量测定方法。基于双缩脲反应，即在碱性环境下蛋白质将Cu²⁺还原成Cu⁺，产生一种紫蓝色复合物，在562nm处有高的吸光值，该反应产物的量与蛋白质浓度成正比。与Lowery法相比，BCA蛋白浓度测定法实现了蛋白质浓度测定的操作简便、灵敏度高、快速和稳定性佳。与Bradford法相比具有受去垢剂的影响较小等显著优势。试剂盒中提供的蛋白标准品为用户制作标准曲线提供了便利。

产品特点：

- 1) 灵敏度高，检测浓度下限达到5 μg/ml。
- 2) 速度快，比一般的BCA蛋白浓度测定试剂盒显色所用时间短。
- 3) 线性范围广，25-2000 μg/ml浓度范围内有较好的线性范围。
- 4) 不受大部分样品中的化学物质的影响，可以兼容样品中5%的SDS, 5%的Triton X-100, 5%的Tween 20, 60, 80等。

操作方法：

一、配制标准品和工作液

1、配制蛋白标准品(BSA) 品系

注：标准品稀释液为蛋白样品的溶解液，原则上蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液进行稀释，这样可以最大程度降低溶液中各种成分的干扰。但是也可以用0.9%的NaCl或者1×PBS溶液进行稀释。

BSA标准品的配制可参考表一：

表一、BSA标准品系配制 (线性范围 25-2000 μg/ml)

管号	稀释液体积 (μl)	2mg/ml BSA 体积 (μl)	BSA终浓度 (μg/ml)
A	0	100	2000
B	25	75	1500
C	50	50	1000
D	125	75	750
E	150	50	500
F	350	50	250
G	375	25	125
H	395	5	25
I	400	0	0=B blank

注：微孔板检测每管需要100 μl标准品，如果用比色皿检测，按3个重复计算，每个浓度至少配制300 μl。

如果样品的浓度比较低，则可以按照以下加强试管的稀释方案 (线性范围为5-250 μg/ml) 进行标准曲线的制作。

表二、BSA标准品系配制 (线性范围 5-250 μg/ml)

管号	稀释液体积 (μl)	BSA来源及体积 (μl)	BSA终浓度 (μg/ml)
A	350	50的原液	250
B	200	200的A管稀释液	125
C	225	150的B管稀释液	50
D	150	150的C管稀释液	25
E	300	75的D管稀释液	5
F	200	0	0



BCA 蛋白定量检测试剂盒 (BCA Protein Assay Kit)

2、配制 BCA 工作液

1) 计算所需要的总 BCA 工作液体积

总 BCA 工作液体积 = (标准品 + 待测样品)
× 重复数 × 每个样品所需要的 BCA 工作液

注：微孔板检测每个样品加 200 μ l BCA 工作液，比色皿检测时每个样品加 2.0ml BCA 工作液。

2) 配制 BCA 工作液：50 体积的 BCA 试剂 A 中加入 1 体积的 BCA 试剂 B (A:B=50:1)，充分混匀。

注：BCA 试剂 B 加入后，溶液迅速混浊，通过混匀后立即变澄清。BCA 工作液最好现用现配，检测前 4 小时之内配制后装入密封容器内存放，试剂比较稳定。

二、检测方法

1、微孔板检测方法

1) 各取 10 μ l 标准品和待测样品加入到微孔板中。

注：样品与工作液的比例可根据待测样品的量而定，若样品有限，可适量减少标准品和待检测样品的用量，该试剂盒的检测范围为 25-2000 μ g/ml。

2) 每孔加入 200 μ l BCA 工作液，振荡充分混匀后，避光置于 37°C，孵育 30min。

3) 冷却至室温，在酶标仪上的 540~595nm 波长范围内检测吸光度，其中 562nm 波长的吸光度为最佳。

注：由于酶标板的光径较短，需要更好的样品与

工作液的比率来获得较好的检测灵敏度；若检测波长大于 562nm，建议延长孵育时间，最长至 2 小时；

4) 根据 BSA 标准品的吸光度（减去标准品中空白孔的 OD 值即最终的读数），绘制标准曲线 (X- 最终的 OD562nm 读数，Y- 蛋白浓度 μ g/ml)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

2、比色皿检测方法

1) 各取 100 μ l 标准品和待测样品加入到反应管中。

2) 每孔加入 2.0 ml BCA 工作液，振荡充分混匀后，避光置于 37°C，孵育 30min。

注：由于酶标板的光径较短，需要更好的样品与工作液的比率来获得较好的检测灵敏度；若检测波长大于 562nm，建议延长孵育时间，最长至 2 小时；

3) 冷却至室温，在酶标仪上的 540~595nm 波长范围内检测吸光度，其中 562nm 波长的吸光度为最佳。

注：由于酶标板的光径较短，需要更好的样品与工作液的比率来获得较好的检测灵敏度；若检测波长大于 562nm，建议延长孵育时间，最长至 2 小时；

4) 根据 BSA 标准品的吸光度（减去标准品中空白孔的 OD 值即最终的读数），绘制标准曲线 (X- 最终的 OD562nm 读数，Y- 蛋白浓度 μ g/ml)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

上海东寰生物科技有限公司

SHANGHAI DONGHUAN BIOTECH CO.,LTD

公司网址：www.dhbio.com

电话咨询：021-39965016

QQ 咨询：3295258599

邮箱：market@dhbio.com