



即用型 BCA 蛋白浓度测定试剂盒

产品货号: AR0051

产品批号: 见外包装标签

主要成份:

组分名称	规格
试剂 A	100ml
试剂 B	3ml
BSA 标准品①(2000 μ g/ml)	1.5ml
BSA 标准品②(1500 μ g/ml)	1.5ml
BSA 标准品③(1000 μ g/ml)	1.5ml
BSA 标准品④(750 μ g/ml)	1.5ml
BSA 标准品⑤(500 μ g/ml)	1.5ml
BSA 标准品⑥(250 μ g/ml)	1.5ml
BSA 标准品⑦(125 μ g/ml)	1.5ml
BSA 标准品⑧(0 μ g/ml)	1.5ml (空白孔)

产品描述: 微孔板法可以测量 500 孔。

产品保存: 4℃保存，一年内有效。

产品说明: 碱性条件下，蛋白将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ， Cu^+ 与 BCA 试剂形成紫颜色的络合物，吸光度强度与蛋白浓度成正比。测定其在 562nm 处的吸收值，并与标准曲线对比，即可计算待测蛋白的浓度。

产品特点:

1. 准确灵敏，线性范围广，BCA 试剂的蛋白质测定范围是 20—2000 μ g/ml。
2. 提供即用型标准品，省去繁琐的稀释步骤。
3. 不受样品中离子型和非离子型去污剂影响。
4. 检测不同蛋白质分子的变异系数远小于考马斯亮蓝法蛋白定量。

注意事项:

1. 低温或长期保存，若发现 BCA 试剂 A 或者试剂 B 有沉淀发生，请 37℃ 温育并伴随搅拌促使其充分溶解，



如发现细菌污染，则应丢弃，避免对实验结果造成影响。

2. 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。

3. 每次测量蛋白浓度均应做标准曲线。

4. 当试剂 A 和 B 混合时会有浑浊，混匀后就会消失。

5. 需准备 37℃温箱、酶标仪，测定波长为 540-595nm 之间，562nm 最佳。酶标仪需与 96 孔酶标板配套使用。

使用温箱孵育时，应注意防止因水分蒸发影响检测结果。

6. 使用 BCA 蛋白测定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，因此需注意保持定时和定温，以确保精确定量。

使用方法：

一. 配制 BCA 工作液

A. 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

注意：微孔板检测每个样品加 200 μl BCA 工作液。

B. 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。

注意：BCA 试剂 B 加入 BCA 试剂 A 中后，迅速浑浊，通过混匀后立即变澄清。BCA 工作液装入密封容器内，室温条件 24h 稳定。

二. 微孔板法

1. 分别取 BSA 标准品①-⑧ 各 25 μL 加到 96 孔板各孔中（BSA 标准品使用前须充分摇匀）。

2. 用 1×PBS 或 0.9%生理盐水将样品适当稀释（可以多作几个梯度，如 2 倍、4 倍、8 倍稀释），不同稀释度的待测样品各取 25 μl 依次加入到 96 孔板的样品孔中。。

3. 每孔加入 200 μl BCA 工作液，振荡 30s 充分混匀。盖上微孔板，37℃孵育 30min，冷却到室温。

注意：也可以室温放置 2h，或 60℃放置 30min。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。如果蛋白浓度较低，可在较高温度孵育，或延长孵育时间。

4. 用酶标仪测定每个待测样品和 BSA 标准品在 A562 处的吸光值，或 540-590 nm 之间的其它波长的吸光值，注意要减去空白孔(BSA 标准品⑧+BCA 工作液)的吸光值。

5. 绘制标准曲线，计算待测样品中的蛋白浓度。

注意：数据处理时需要去除明显错误的值，实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。