



# BCA蛋白浓度测定试剂盒

## BCA Protein Assay Kit

#AQ526-500T

### 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 $\text{Cu}^{2+}$ 还原为 $\text{Cu}^+$ ， $\text{Cu}^+$ 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 $\mu\text{g}$ ，待测样品体积为1~20 $\mu\text{l}$ 。

### 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 $^{\circ}\text{C}$ 储存。

### 使用说明

#### 一. BSA标准品:

BSA蛋白标准品储存液为2mg/ml，使用前需配制不同浓度的标准品工作液。配制后的蛋白标准溶液可以-20 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存。



注：蛋白标准品稀释溶液成分应尽量不影响BCA反应。简便起见，可以使用生理盐水或1×PBS。

## 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. BSA标准品配制。工作浓度范围20-2000 μg/ml。测定时每孔加10 μl相应标准品溶液。

| 管号 | 稀释液/μl | BSA标准品/μl | 终浓度μg/ml |
|----|--------|-----------|----------|
| A  | 0      | 300       | 2000     |
| B  | 125    | 375       | 1500     |
| C  | 325    | 325       | 1000     |
| D  | 175    | 175 B     | 750      |
| E  | 325    | 325 C     | 500      |
| F  | 325    | 325 E     | 250      |
| G  | 325    | 325 F     | 125      |
| H  | 400    | 100 G     | 25       |

2. 待测样品浓度如超过标准品工作浓度范围会导致测定不准确，需适当稀释。将10μl待测样品加入到96孔板的样品孔中。

3. 每孔加入200 μl 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。