

BCA 蛋白浓度测定试剂盒

BCA Protein Assay Kit

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-500T
MCK-0029	BCA 试剂 A	100 mL
	BCA 试剂 B	3 mL
	蛋白标准(BSA)	30 mg
	蛋白标准配制液	1.5 mL
	说明书	1 份

产品简介

BCA 蛋白浓度测定试剂盒(BCA Protein Assay Kit)是根据目前世界上最常用的两种蛋白浓度检测方法之一 BCA 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。灵敏度高，检测浓度下限达到 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，最小检测蛋白量达到 0.5 μg ，待测样品体积为 1-20 μL 。在 50-2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内有较好的线性关系。

BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响，可以兼容样品中高达 5% 的 SDS, 5% 的 Triton X-100, 5% 的 Tween 20、60、80。但本试剂盒受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保 EDTA 低于 10mM，无 EGTA，二硫苏糖醇(DTT)低于 1mM β -巯基乙醇(β -Mercaptoethanol)低于 0.01%。不适用 BCA 法时建议试用本公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。

保存条件

室温保存。蛋白标准配制成溶液后-20℃冻存，保质期两年。

注意事项

- 需酶标仪一台，测定波长为 540-595nm 之间，562nm 最佳。需 96 孔板。
- 如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但测定时，需根据比色皿的最小检测体积，适当加大 BCA 工作液的用量使不小于最小检测体积，样品和标准品的用量可相应按比例放大，也可不变。使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
- 如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，请试用本公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。
- 为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度，可以适当用微波炉加热，但是切勿过热。
- EDTA 浓度必须小于 10mM，不兼容 EGTA。不适用 BCA 法时，请试用本公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 蛋白标准品的准备

- (1) 取 1.2mL 蛋白标准配制液加入到一管蛋白标准(30mg BSA)中，充分溶解后配制成 25mg/mL 的蛋白标准溶液。配制后可立即使用，也可以-20℃长期保存。
- (2) 取适量 25mg/mL 蛋白标准，稀释至终浓度为 0.5mg/mL。例如取 20 μL 25mg/mL 蛋白标准，加入 980 μL 稀释液即可配制成 0.5mg/mL 蛋白标准。蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见，也可以用 0.9% NaCl 或 PBS 稀释标准品。稀释后的 0.5mg/mL 蛋白标准可以-20℃长期保存。

2. BCA 工作液配制

根据样品数量，按 50 体积 BCA 试剂 A 加 1 体积 BCA 试剂 B(50:1)配制适量 BCA 工作液，充分混匀。例如 5mL BCA 试剂 A 加 100 μL BCA 试剂 B，混匀，配制成 5.1mL BCA 工作液。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。

3. 蛋白浓度测定

- (1) 将标准品按 0、1、2、4、8、12、16、20 μL 加到 96 孔板的标准品孔中，加标准品稀释液补足到 20 μL ，相当于标准品浓度分别为 0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5mg/mL。
 - (2) 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 20 μL ，需加标准品稀释液补足到 20 μL 。请注意记录样品体积。
 - (3) 各孔加入 200 μL BCA 工作液，37℃放置 20-30 分钟。
- 注：**也可以室温放置 2 小时，或 60℃放置 30 分钟。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，适合在较高温度孵育，或适当延长孵育时间。
- (4) 用酶标仪测定 A562，或 540-595nm 之间的其他波长的吸光度。
 - (5) 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度。