



BCA蛋白浓度测定试剂盒

(BCA Protein Assay Kit)

产品说明:

BCA(bicinchoninic acid)试剂检测蛋白浓度，是目前很常用的蛋白测定方法。BCA测定方法原理与Lowry法相似，但操作更为简便。该方法还具有反应产物稳定、灵敏度高（0.5 μg BSA微量测定）、浓度测定的线性范围广（25 μg ~2500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ BSA微量测定）、蛋白间测定变异小、对去污剂有较高的耐受性等特点，特别适合于微量测定。

产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
BCA Reagent A	100 ml	RT
BCA Reagent B	3 ml	RT
BSA (2mg/ml)	1ml	-20°C

可进行100次常规测定，500次微量测定。常温运输，室温保存。有效期12个月。

操作方法:

- 1) 蛋白标准品作系列浓度稀释，浓度范围可设定在25 μg ~2500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，或涵盖样品估计浓度的一定范围。稀释液可用生理盐水、PBS或0.1% SDS。测定样品也可作2~3个稀释浓度。用稀释液作空白对照。
- 2) 根据测定数量的不同，按50/1比例混合A液和B液，配制成工作液。混合时，液体可能出现浑浊，混匀后则形成清亮浅绿色溶液。
- 3) **微量测定法:**
 - 96孔板各孔中加入20 μl 不同浓度的蛋白标准品和待测样品，以及空白对照。每孔加入200 μl 工作液。置37°C放置30 min。
 - 在酶标仪上测定562 nm波长（或540~595 nm波长）下的吸光度。
 - 根据蛋白标准品浓度和吸光度，制作蛋白浓度标准曲线。从标准曲线和样品稀释倍数计算样品的蛋白浓度。
- 4) **常规测定法:**
 - 标记一系列试管，每管中加入100 μl 不同浓度的蛋白标准品和待测样品，以及空白对照。每管加入1 ml工作液。置37°C放置30 min。
 - 在分光光度计上测定562 nm波长（或540~595 nm波长）下的吸光度。
 - 根据蛋白标准品浓度和吸光度，制作蛋白浓度标准曲线。从标准曲线和样品稀释倍数计算样品的蛋白浓度。

BCA蛋白浓度测定的干扰因素:

BCA蛋白浓度测定的显色反应依赖于Cu离子的还原。还原剂如DTT、巯基乙醇，以及离子络合剂如EDTA、EGTA，均可干扰成色反应。