BCA Protein Assay Kit {BCA 蛋白定量试剂盒}

货号：BRK0011

规格：500T/5×500T

◆ 产品简介

BCA（Bicinchoninic acid）法是目前应用比较广泛的蛋白质浓度测定方法。基于双缩脲反应，即在碱性环境下蛋白质将 Cu^{2+}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。BCA 蛋白浓度测定法实现了蛋白质浓度测定的简便、灵敏、快速和稳定性。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。该 BCA 蛋白浓度测定试剂盒可用于比色皿法检测，也可用于微孔板法检测。前者虽需较大量（100μL）的蛋白样品，但由于其在检测中使用蛋白样品与 BCA 工作液的比率为 1:20（v/v），从而降低干扰物质带来的影响。后者操作简单方便，仅需少量（10-25μL）的蛋白样品。不过，由于其在检测中使用蛋白样品与 BCA 工作液的比率为 1:8（v/v），某种程度上限制干扰物质的承受浓度以及降低最低检测水平。

◆ 保存条件

冰袋运输。试剂盒中 A、B 液 2~8℃保存；蛋白标准品（BSA）置于−25~−15℃保存，有效期 12 个月。

◆ 产品组成

产品编号	名称	规格	储存温度
BRK0011-1	BCA 试剂 A	100 mL	Store at 2~8℃
BRK0011-2	BCA 试剂 B	3 mL	Store at 2~8℃
BRK0011-3	蛋白标准(BSA)(5 mg/mL)	2×1mL	Store at −25~−15℃
BRK0011-4	蛋白标准配制液（PBS）	10 mL	Store at 2~8℃

◆ 产品特点

1.灵敏度高，最小检测蛋白量可达 0.2μg，检测浓度下限达到 10μg/mL(在 20~1000μg/mL 浓度范围内有较好的线性关系）。

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。比传统的 Lowry 法检测速度约快 4 倍。

3.线性范围广，20-1000μg/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, BCA 法测定蛋白浓度的最大优点是蛋白浓度的测定可以耐受高浓度的去垢剂，可以兼容样品中高达 5%的 SDS; 5%的 Triton X- 100; 5%的 Tween 20, 60, 80。但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 ，二硫苏糖醇低于 1mM; β-巯基乙醇低于 0.01%。

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn

5.Bradford 法与 BCA 法的对比

方法	Bradford 法	BCA 法
灵敏度	1~5 μg	0.5~20 μg
时间	5~15 min	40~60 min
波长	595 nm	562 nm
检测不同类别蛋白质	变异系数较高	变异系数较低
吸光稳定性	1 h 内稳定	随时间变化

◆ 操作步骤（仅供参考）

BCA 工作液配制:

将试剂 A 和试剂 B 按照体积比 50:1 比例混合配成 BCA 工作液。取 50mL 试剂 A 与 1mL 试剂 B 混合，配成 51mL BCA 工作液。两者混合时会有沉淀形成，彻底混匀后沉淀消失。

微孔板测定操作：（工作范围 20-2000 μg/mL）

1. 蛋白标准品配制：室温完全溶解蛋白标准品，取 20μL 5mg/mL BSA 蛋白标准溶液用 蛋白标准配制液（PBS） 溶液稀释至 100μL 使其终浓度为 1.0 mg/mL。

2. 按照下表配制 BSA 标准测定溶液:

编号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
	1 mg/mL BSA 标准溶液 μL							5 mg/mL BSA 标准溶液 μL	
BSA 标准溶液μL	0	0.5	2.5	5.0	10	15	20	6	8
蛋白标准配制液（PBS）μL	20	19.5	17.5	15	10	5	0	14	12
BSA 终浓度μg/mL	0	25	125	250	500	750	1000	1500	2000
总体积μL	20 μL								

3. 将适当体积的待测样品加入到微孔板中，并用 蛋白标准配制液（PBS） 补足到 20 μL。

4. 向微孔板中加入 200μL BCA 工作液混匀, 37℃放置 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。

5. 测定 562 nm 处的吸光值， 并记录读数； 以不含 BSA 的样品的光吸收值作为空白对照。

6. 以 A562 为纵坐标, BSA 含量为横坐标，绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度. 如果蛋白浓度不在标准曲线范围内，请稀释样品后重新测定。

试管测定操作：（工作范围 20-1000 μg/mL）

1. 蛋白标准品配制：室温完全溶解蛋白标准品，取 150μL 5mg/mL BSA 蛋白标准溶液,加入 600μL 蛋白标准配制液（PBS）溶液稀释至 750μL，使其终浓度为 1.0 mg/mL。

2、按照下表配制 BSA 标准测定溶液:

编号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
	1 mg/mL BSA 标准溶液 μL							5 mg/mL BSA 标准溶液 μL	
BSA 标准溶液μL	0	2.5	12.5	25	50	75	100	30	40
蛋白标准配制液（PBS）μL	100	97.5	87.5	75	50	25	0	70	60
BSA 终浓度μg/mL	0	25	125	250	500	750	1000	1500	2000
总体积μL	100 μl								

3. 将适当体积的待测样品加入到试管中，并用 蛋白标准配制液（PBS）补足到 100 μL;

4. 向试管中加入 2mL BCA 工作液，混匀，37℃放置 30 分钟;

5 、6 步骤同上。

◆ **注意事项**

1.待测蛋白和 BSA 标准溶液应使用同样的稀释液（可以使用 0.9%NaCL 或蛋白标准配制液（PBS）作为稀释液）。否则待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致，有可能导致测定不准确。

2.BCA 蛋白测定法测定时颜色会随着时间的延长不断加深，显色反应的速度和温度有关，需注意保持定时和定温，以确保精确定量。

3.测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加，吸光度或颜色没有明显变化。可能的原因是样品中含有严重干扰 BCA 法测定蛋白浓度的物质。

4.建议每次测定时都做标准曲线。每次测定都需做相应的标准曲线，因为显色反应与温度和时间的变化有关，精准蛋白定量宜每次都做标准曲线。

5.如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定。但应考虑比色皿的最小测定体积，按比例适当加大 BCA 工作液的用量使总体积不小于最小检测体积，样品和标准品的用量亦相应按比例放大;

6.长期保存，若发现 BCA 试剂 A 或者试剂 B 有沉淀发生。请 37°C 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。

7.该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

8.为了您的安全和健康，请穿戴好个人防护装备进行操作。