AWB0104

BCA Protein Assay Kit
BCA蛋白定量试剂盒

产品介绍

BCA蛋白定量法是目前常用的蛋白定量方法之一。本产品的原理是在碱性条件下，蛋白质将Cu^{2+}还原为Cu^{+}，Cu^{+}与BCA试剂（Bicinchoninic Acid，二喹啉甲酸）形成紫色络合物，该络合物在562nm处有紫外吸收峰，与标准曲线对比，即可计算出待测蛋白的浓度。

BCA法快速、灵敏、稳定。以BSA（牛血清蛋白）溶液为蛋白质标准品溶液，测定范围为20~2000 μg/ml。

产品规格

名称	AWB0104-100T	AWB0104-250T	AWB0104-500T	AWB0104-2500T
BCA-A	20ml	50ml	100ml	500ml
BCA-B	0.6ml	1.5ml	3ml	15ml
BSA Standard Solution	0.5ml	1ml	2ml	10ml

注：

- 在低温条件或长期保存出现沉淀时，可搅拌或37℃温育使溶解，如发现细菌污染则应丢弃。
- 试剂A与试剂B用应密闭保存。

保存条件

RT避光，BSA Standard Solution 2-8℃保存

使用方法

A．96孔酶标板测定：

1、 BSA蛋白质标准工作液配制：用与待测蛋白样品一致的稀释液按下表稀释BSA标准品；

编号	稀释液用量（μl）	BSA标准品用量（μl）	BSA标准品最终浓度（μg/μl）
A	0	100	2
B	200	200	1
C	200	200（从B管取）	0.5
D	200	200（从C管取）	0.25
E	200	200（从D管取）	0.125
F	200	200（从E管取）	0.0625
G	200	0	0

2、 体积比为50：1的比例配制适量BCA工作液，充分混匀；

例子：BSA标准样品个数为7个，待测样品为2个，每个样品重复3次。

96孔检测法所需BCA工作液总量为：

（7个BSA标准品样品+2个待测品样品）×3×0.2ml=5.4ml；

再根据BCA-A和BCA-B体积比50：1的比例计算所需量。但是由于加样过程中存在误差，建议多配2个孔的量。

3、 96孔板检测过程：

（1）将上述稀释好的BSA标准样品和待测样品各25μl分别加到做好标记的96孔板中，每个样品推荐做2-3

个重复。

（2）每个孔加入200μlBCA工作液，充分混匀，盖上96孔板盖，37℃孵育30min，冷却至室温，去除气泡，在3~5min内完成检测。

（3）用酶标仪在540~590nm（建议是562nm，也可选择550/630nm）范围内检测96孔板中所有样品的吸光值。

（4）根据上述BSA标准品浓度和吸光值绘制标准曲线，计算待测样品蛋白浓度。

B．比色皿测定：

按照比色皿规格，与以上方法相同，适当按比例增加各溶液体积即可。

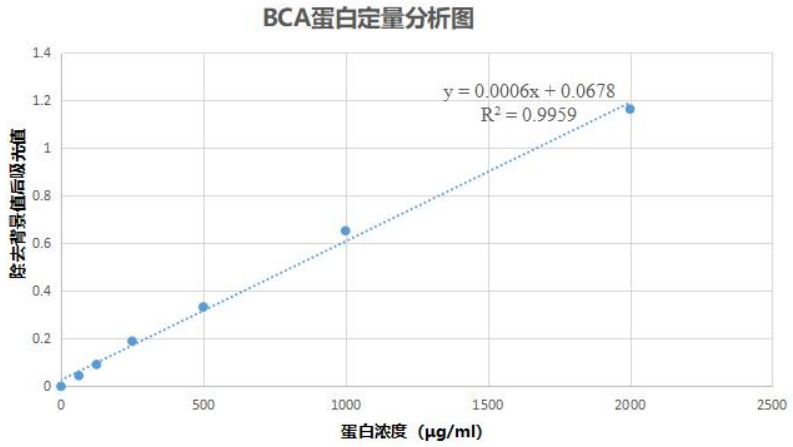
使用注意事项：

1、 由于该法检测时，吸光值会随时间延长而加深，因此，须在3~5min内完成检测，否则会影响蛋白浓度定量的准确性。
2、 建议去除背景值后的吸光值读数绘制标准曲线。
3、 使用温箱孵育时，应注意防止因水分蒸发导致的误差。
4、 由于操作误差导致标准品读数严重偏离线性曲线的应该去除。
5、 试剂A和试剂B混合后可能会出现浑浊，充分混匀后消失。
6、 未知样品蛋白浓度可以从标准曲线方程计算得到，实际样品蛋白浓度需要乘以相应的稀释倍数。
7、 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。
8、 若样品中含有较高浓度的EDTA等螯合剂，建议选用Bradford法检测。

BCA蛋白定量浓度分析结果举例

96孔检测法结果

蛋白浓度（μg/ml）	去除背景值后的吸光值	原始吸光值
0	0	0.0416（背景值）
62.5	0.0449	0.08655
125	0.0918	0.1334
250	0.1896	0.2312
500	0.3331	0.3747
1000	0.6524	0.694
2000	1.1627	1.2043



附表：

常见干扰物质的上限浓度			
化合物	浓度	化合物	浓度
NP-40	1.0%	葡萄糖	10mM
SDS	1.0%	蔗糖	1M

盐酸胍	4M	EDTA	10mM
Trition X-100	1%	β-巯基乙醇	50μM
甘氨酸	1M	DTT	1mM
乙酸盐	0.2M	尿素	3M
Tris	0.1M	DMSO	5%
NaCl	1M	甘油	10%
HCl/NaOH	0.1M	TES	50mM
HEPES	0.1M	MOPS	50mM

注意事项

1、 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
2、 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。