

BCA 蛋白定量检测试剂盒

BCA Protein Assay Kit

产品编号	产品名称	规格
BN27109	BCA Protein Assay Kit	500T

产品简介

BCA 蛋白定量检测试剂盒，是一种灵敏并且抗干扰能力强的蛋白定量检测试剂盒。蛋白质在碱性条件下能够将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ，BCA (Bicinchoninic acid) 与 Cu^+ 螯合形成紫蓝色螯合物，通过测定螯合产物在 562nm 的吸光度值，即可对蛋白浓度进行定量。

BCA 蛋白定量方法对去垢剂耐受能力强，SDS, Triton X-100, Tween-20 等去垢剂，只要浓度低于 5%，即对蛋白浓度测定无明显影响。特别适合用于 RIPA 裂解液提取的细胞和组织蛋白样品中的蛋白浓度测定。

本试剂盒方便快捷，加入待测样品 1 小时即可进行吸光度测定，对蛋白定量线性范围在 31.2-1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间，灵敏度 $\leq 31.2\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

试剂盒组成

组份编号	组份名称	规格	数量
BN27109-1	BCA Solution	100 ml/瓶	1
BN27109-2	Cu^{2+} Solution	2 ml/管	1
BN27109-3	Protein Standard (10 mg/ml)	1ml /管	1
—	说明书	份	1

需要而未提供的试剂及器材

1. 超纯水
2. 细胞培养用 PBS 或 RIPA 裂解液
3. 系列可调节量程移液器及吸头
4. 干净的试管、离心管及 96 孔板
5. 酶标仪

储存条件

蛋白标准品置于 -20°C 储存，其它部分 常温 储存，保质期 12 个月。

注意事项

1. 本试剂盒涉及氧化还原反应，很多氧化剂和还原剂都会干扰试剂盒的测定，特别是

带巯基的试剂会干扰本试剂盒的测定，请尽量避免使用。

2. 本试剂盒涉及金属离子的螯合反应，避免使用 EDTA 等螯合剂处理样品，如果使用，请保持浓度 ≤ 0.5 mM。
3. 每次测定时利用标准品制作标准曲线。
4. 初次使用试剂盒时，小体积液体试剂请适当离心后使用。
5. 本产品仅限专业人员用于科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. BCA试剂在低温条件下出现结晶沉淀时，可37℃温育使其完全溶解，不影响使用。

使用说明

1. 样品的准备

- 1.1 细胞样品的准备：收集适量新鲜细胞，PBS 洗涤细胞一次，离心收集细胞，吸尽上清。加入 400 μ l 冰冷 PBS 匀浆裂解或利用中等强度 RIPA 裂解液冰浴裂解。4℃，10000g 离心 10 分钟。取上清用于蛋白浓度测定。不立即测定的样品可以-20℃及其以下温度保存。
- 1.2 组织样品的准备：取约 20 mg 组织，加入 1 ml 的冰冷 PBS 或中等强度 RIPA 裂解液，用匀浆器冰浴匀浆。4℃，10000g 离心 10 分钟。取上清用于蛋白浓度测定。不立即测定的样品可以-20℃及其以下温度保存。如果样品中蛋白浓度超出测定范围，可利用 PBS 或 RIPA 裂解液适当稀释后测定，稀释倍数请通过预实验确定。
- 1.3 血清、血浆、唾液或尿液样品的准备：血清、血浆、唾液或尿液样品，都可以利用纯水适当稀释后直接用于测定。不立即测定的样品可以-20℃及其以下温度保存。

2. 试剂盒的准备

BCA 蛋白定量检测工作液的配制：按下表比例取 BCA 溶液和 Cu^{2+} 溶液配制 BCA 蛋白定量检测工作液。

	1 个样品	10 个样品	50 个样品
BCA Solution	200 μ l	2 ml	10 ml
Cu^{2+} Solution	4 μ l	40 μ l	200 μ l

3. 标准品的准备

利用制备样品的溶剂（PBS 或 RIPA 裂解液等）将部分 10 mg/ml 蛋白标准品稀释到 1000 μ g/ml，然后再倍倍稀释成 500、250、125、62.5、31.2 μ g/ml 等浓度梯度，用于标准曲线测定。每次测定前重新配置标准品系列稀释液。

测定方法

1. 参考下表，使用 96 孔板，依次加入 BCA 蛋白定量检测工作液、标准品或样品后，混匀，37℃ 孵育 1 小时。

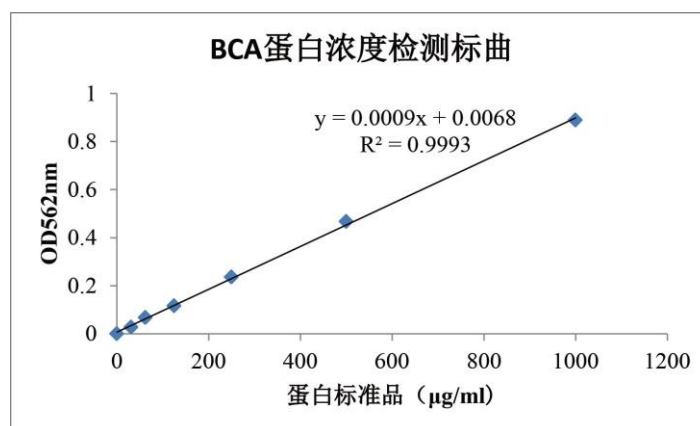
	空白对照孔	标准曲线孔	样品孔
BCA 蛋白定量检测工作液	200 μ l	200 μ l	200 μ l
纯水或样品制备溶剂	20 μ l	—	—
标准品	—	20 μ l	—
样品	—	—	20 μ l
37℃ 孵育	1 h	1 h	1 h

注：如果将孵育温度提高到 60℃，可以缩短反应时间。

2. 孵育结束后，利用酶标仪测定 A_{562nm} 。如果样品吸光度超过最高浓度标准品吸光度值，可适当稀释样品后测定，如果样品吸光度过低，可适当冷冻干燥浓缩样品后测定。

数据处理

利用标准品浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标制作 BCA 蛋白浓度检测标准曲线，并获得横纵坐标之间的函数关系式，然后利用标曲和各样品的吸光度值计算样品中蛋白浓度。蛋白浓度标曲如下图所示：



参考文献

1. P. K. Smith, et al. 1985. Measure of protein using bicinchoninic acid. Anal Biochem. 150: 76-85.
2. R. Kessler, D. Fanestil, 1986. Interference by lipids in the determination of protein using bicinchoninic acid. Anal Biochem. 159: 138-142.
3. K. Wiechelman, et al. 1988. Investigation of the bicinchoninic acid protein assay: Identification of the groups responsible for color formation. Anal Biochem. 175: 231-237.
4. R. Brown, et al. 1989. Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances. Anal Biochem. 180: 136-139.