

## BCA Protein Assay Kit 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 描述:

BCA 蛋白质定量试剂盒 (BCA Protein Assay Kit) 是根据目前世界上最常用的蛋白浓度检测方法之一—BCA (bicinchoninic acid) 法改良研制而成, 该试剂盒具有蛋白浓度测定的简单性, 高稳定性, 高灵敏度和高兼容性。本试剂盒的原理是蛋白质分子中的肽键结构在碱性环境下能与  $\text{Cu}^{2+}$  络合生成络合物, 将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^{+}$ , 而 BCA 试剂可敏感特异地与  $\text{Cu}^{+}$  结合, 形成稳定的有颜色的复合物, 并在 562nm 处有最大光吸收值, 该复合物颜色深浅与蛋白质浓度成正比, 可根据吸收值的大小来测定蛋白的含量, 1 小时内即可完成蛋白定量检测。本试剂盒含有牛血清白蛋白 (BSA) 溶液作为蛋白质标准溶液, 测定范围为 25~2000  $\mu\text{g/ml}$ 。该试剂盒可用于 20 次试管检测或 200 次 ELISA 板检测。

### 组分

组分	数量	保存
BCA Reagent A	100 ml	室温
BCA Reagent B	1 ml×2	室温
BSA 标准品 (2 mg/ml)	1 ml×2	-20℃

### 操作方法

1. 标准品的稀释: 按下表将 BSA 进行稀释。

管号	PBS	BSA 体积 (来源)	BSA 终浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )
A	0	300 $\mu\text{l}$ (母液)	2000
B	125 $\mu\text{l}$	375 $\mu\text{l}$ (母液)	1500
C	325 $\mu\text{l}$	325 $\mu\text{l}$ (母液)	1000
D	175 $\mu\text{l}$	175 $\mu\text{l}$ (B 管)	750
E	325 $\mu\text{l}$	325 $\mu\text{l}$ (C 管)	500
F	325 $\mu\text{l}$	325 $\mu\text{l}$ (E 管)	250
G	325 $\mu\text{l}$	325 $\mu\text{l}$ (F 管)	125
H	400 $\mu\text{l}$	100 $\mu\text{l}$ (G 管)	25
I	400 $\mu\text{l}$	0	0

2. BCA 工作液的配置: 根据样品数量及测定方法, 将 BCA Reagent A 和 BCA Reagent B 按体积比 50:1 充分混匀即可。

注意：配制 BCA 工作液前请将 BCA Reagent A 混匀。

### 3. 标准比色杯测定方法

- (1) 吸取 0.1 ml 的各标准品和待测样品置于合适的管中。
- (2) 加入 2 ml BCA 工作液，充分混匀。
- (3) 37℃ 孵育 30 min，然后室温静置 10 min。
- (4) 紫外分光光度计于 562 nm 处检测吸光度。
- (5) 绘制标准曲线。
- (6) 根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

### 4. 微管测定方法

- (1) 分别取 25  $\mu$ l 新鲜配制的 BSA 标准液和待测样品，加入到 ELISA 反应板中。
- (2) 每孔加入 200  $\mu$ l BCA 工作液，充分混匀。
- (3) 37℃ 孵育 30 min，然后室温静置 10 min。
- (4) 酶标仪于 562nm 处检测吸光度。
- (5) 绘制标准曲线。
- (6) 根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

### 注意事项

1. 待测样品浓度在 25~2000  $\mu$ g/ml 的范围内具有良好的线性关系。
2. BCA 工作液配制后 24 小时内使用效果稳定。
3. BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度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，或延长孵育时间。
4. 使用普通的分光光度计测定时，需根据比色皿的最小检测体积，适当加大 BCA 工作液的用量，使其不小于最小检测体积，样品和标准品的用量可相应按比例调整。
5. 适用范围