



## BCA 蛋白定量试剂盒

### 产品描述

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 $\text{Cu}^{2+}$ 还原成 $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^+$ 与BCA试剂形成紫颜色的络合物, 在562 nm处有高的吸光值, 该反应产物的量与蛋白质浓度成正比。测定其在562 nm处的吸光值, 并与标准曲线对比, 即可计算待测蛋白的浓度。该方法快速灵敏、稳定可靠且对不同种类蛋白质变异系数很小。试剂盒中提供了浓度稳定的蛋白标准品用于制作标准曲线。

BCA 蛋白定量试剂盒可用于试管法检测, 也可用于微孔板法检测。试管法需较大量蛋白样品(100  $\mu\text{L}$ ) 和工作液(2 mL), 蛋白样品与 BCA 工作液的比率为1:20(v/v), 蛋白质测定范围为20-2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 采用加强法可以检测到 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 微孔板法操作简单方便, 仅需少量(10-25  $\mu\text{L}$ )的蛋白样品和工作液(200  $\mu\text{L}$ ), 蛋白样品与工作液的比率为1:20(v/v)或者1:8(v/v), 蛋白质测定范围为 20-2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 采用加强法可以检测到 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

我司提供的 BCA 蛋白浓度检测试剂盒, 比色皿法分别可做50次, 酶标法可做500次。

### 订购信息

产品名称	货号	规格
BCA蛋白定量试剂盒	AP12L025	500T

### 产品组分

组分	规格
A. BCA 试剂A	100 mL
B. BCA 试剂B	5 mL
C. BSA 标准品 2 mg/mL	2*1 mL

### 运输与保存

常温运输。常温保存, 有效期12个月。

### 使用方法

#### 一、配制标准品和工作液

1. 配制 BSA 标准品体系 (线性范围 20-2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  或者 5-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准品制备各 2 种配置方法, 请根据习惯选用恰当方式)。【注】: BSA 标准品浓度为 2 mg/mL, 稀释液为蛋白样品的溶解液, 原则上蛋白样品在什么溶液中, 标准品也宜用什么溶液稀释。但也可用水或 1 X PBS 进行稀释。

#### BSA 标准品体系配制表 (配制后可放置于 4°C 冰箱多次使用)



**表 1.微孔板检测 BSA 标准品体系配制 (线性范围 20-2000 µg/mL) 配置方法一**

Vial	稀释液体积(µL)	BSA 标准品体积(µL)	BSA 终浓度(µg/mL)
A	0	100	2000
B	25	75	1500
C	50	50	1000
D	83	50	750
E	75	25	500
F	140	20	250
G	150	10	125
H	158	2	25
I	100	0	0=Blank

**表 2.微孔板检测 BSA 标准品体系配制 (线性范围 20-2000 µg/mL) 配置方法二**

Vial	稀释液体积(µL)	BSA 标准品体积(µL)	BSA 终浓度(µg/mL)
A	0	BSA 标准液 100	2000
B	25	BSA 标准液 75	1500
C	65	BSA 标准液 65	1000
D	35	Vial B 35	750
E	65	Vial C 65	500
F	65	Vial E 65	250
G	65	Vial F 65	125
H	80	Vial G 20	25
I	80	0	0=Blank

**表 3.BSA 标准品体系 (微孔板检测, 线性范围 5-250µg/mL) 配置方法一**

Vial	稀释液体积(µL)	BSA 标准品体积(µL)	BSA 终浓度(µg/mL)
A	70	10	250
B	75	5	125
C	78	2	50
D	79	1	25
E	399	1	5
F	80	0	0

**表 4.BSA 标准品体系 (微孔板检测, 线性范围 5-250µg/mL) 配置方法二**

Vial	稀释液体积(µL)	BSA 标准品体积(µL)	BSA 终浓度(µg/mL)
A	70	BSA 标准液 10	250
B	40	Vial A 40	125
C	45	Vial B 30	50
D	40	Vial C 40	25
E	40	Vial D 10	5
F	40	0	0



## 2. 配制 BCA 工作液

- (1) 计算所需要的总 BCA 工作液体积。总 BCA 工作液体积= (标准品数量+待测样品数量) x 重复数 x 每个样品所需要的 BCA 工作液。【注】：试管法检测时每个样品加 2.0 mL BCA 工作液，微孔板检测每个样品加 200  $\mu$ L BCA 工作液。
- (2) 配制 BCA 工作液：50 体积的 BCA 试剂 A 中加入 1 体积的 BCA 试剂 B (A:B=50:1)，充分混匀。【注】：BCA 工作液装入密封容器内，室温条件 24h 稳定。

## 二、检测方法

### 1. 试管检测方法 (样品:BCA 工作液=1:20)

- (1) 各取 100  $\mu$ L 标准品和待测样品加入到反应管中。
- (2) 每管加入 2.0 mL BCA 工作液，混匀。根据待测样品的浓度范围选择孵育时间和温度。  
标准孵育方法：37°C 孵育 30 min 或者室温 2h (检测范围：20-2000  $\mu$ g/mL)  
增强孵育方法：60°C 孵育 30 min (检测范围：5-250  $\mu$ g/mL)  
【注】：BCA 检测蛋白浓度，延长孵育时间会加深颜色反应。升高温度会加快显色反应，但是温度升高和时间延长会降低检测下限，以及降低工作线性范围。若蛋白浓度很低，可在较高温度孵育或者适当延长孵育时间。
- (3) 冷却到室温。在分光光度计上进行检测，设定波长为 562 nm，在 10 min 内对所有样品读数。【注】：由于 BCA 反应达不到真正的反应终点，即使温度降低至室温生色反应液会继续。但是，由于室温下生色比率相当低，因此若是 10 min 内能对所有的样本进行 562 nm 吸光度的测试，不会导致明显错误。
- (4) 根据 BSA 标准品的吸光度 (减去标准品中空白孔的 OD 值即最终的读数)，绘制标准曲线 (X-蛋白浓度 $\mu$ g/mL; Y-最终的 OD 562nm)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

### 2. 微孔板检测方法 (样品: BCA 工作液=1:20)

- (1) 各取 10  $\mu$ L 标准品和待测样品加入到微孔板中。【注】：样品与工作液比例为 1:20，检测范围为 125-2000  $\mu$ g/mL。若样品浓度非常低，可使用 25 $\mu$ L 标准品和待检测样品进行检测 (即 1:8)，这时试剂盒的检测范围为 20-2000  $\mu$ g/mL。
- (2) 每孔加入 200  $\mu$ L BCA 工作液，枪头吹打充分混匀。盖上微孔板，37°C 孵育 30 min。
- (3) 冷却到室温，在酶标仪上的 562 nm 波长范围处检测吸光度。
- (4) 根据 BSA 标准品的吸光度 (减去标准品中空白孔的 OD 值即最终的读数)，绘制标准曲线 (X-蛋白浓度 $\mu$ g/mL; Y-最终的 OD 562nm)。依据标准曲线和样品的稀释倍数计算样品蛋白浓度。

## 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用，不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. BCA 兼容性详见官网。

## 相关产品推荐

- EZ ECL pico 化学发光液 (超敏型) (货号: AP34L024)  
三色预染蛋白 Marker (10-180KD) (货号: AP13L053)