



## BCA蛋白浓度测定试剂盒

产品货号：QS05001

产品规格：250T, 500T, 1000T

### 产品简介：

BCA蛋白浓度检测的原理是根据吸光值可以推算出蛋白浓度。碱性条件下，蛋白将 $\text{Cu}^{2+}$ 还原为 $\text{Cu}^+$ ， $\text{Cu}^+$ 与BCA试剂形成紫颜色的络合物，两分子BCA螯合一个 $\text{Cu}^+$ 。将该水溶性复合物在562nm处的吸收值，与标准曲线对比，即可计算待测蛋白的浓度。

### 产品组成：

产品编号	产品名称	规格(250T)
QS05001A	BCA试剂A	50 mL
QS05001B	BCA试剂B	3 mL
QS03011	牛血清白蛋白(BSA)标准溶液(5mg/mL)	5 mL
QS05023	1x PBS溶液	10 mL

### 使用说明（仅供参考）：

#### BCA工作液配置：

取50mL的BCA试剂A与1mL的BCA试剂B混合，配成51 mL的BCA工作液。两者混合时会有沉淀形成，彻底混匀后沉淀消失，溶液应为澄清淡蓝色溶液。

注：BCA工作液室温放置一周不失效。

#### 微孔板测定程序：（工作范围20-2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）

- 1、蛋白标准品配制：室温完全溶解蛋白标准品，取20  $\mu\text{L}$  5mg/mL BSA蛋白标准溶液用PBS溶液稀释至100  $\mu\text{L}$ ，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 $\mu\text{L}$							1 mg/mL BSA标准溶液 $\mu\text{L}$	
BSA标准溶液 $\mu\text{L}$	0	0.5	2.5	5.0	10	15	20	6	8
PBS溶液 $\mu\text{L}$	20	19.5	17.5	15	10	5	0	14	12
BSA终浓度 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0	25	125	250	550	750	1000	1500	2000
总体积 $\mu\text{L}$	20								

- 3、将适当体积的待测样品加入到微孔板中，并用PBS补足到20  $\mu\text{L}$
- 4、向微孔板中加入200  $\mu\text{L}$  BCA工作液，混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 放置30分钟；  
注：也可以室温放置2小时或60 $^{\circ}\text{C}$ 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应温度升高而加快。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562nm处的吸光度，并记录读数；以不含BSA的样品的吸光值作为空白对照。
- 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。如果所得到的蛋白浓度不在标准曲线范围内，请稀释样品后重新测定。

**试管测定程序：（工作范围 20-1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）**

1、蛋白标准品配制：室温完全溶解蛋白标准品，取150  $\mu\text{L}$  5mg/mL BSA蛋白标准溶液用600 $\mu\text{L}$  PBS溶液稀释至750  $\mu\text{L}$ ，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 $\mu\text{L}$							1 mg/mL BSA标准溶液 $\mu\text{L}$	
BSA标准溶液 $\mu\text{L}$	0	2.5	12.5	25	50	75	100	30	40
PBS溶液 $\mu\text{L}$	100	97.5	87.5	75	50	25	0	70	60
BSA终浓度 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0	25	125	250	550	750	1000	1500	2000
总体积 $\mu\text{L}$	100								

3、将适当体积的待测样品加入到微孔板中，并用PBS补足到100  $\mu\text{L}$

4、向微孔板中加入2 mL BCA工作液，混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 放置30分钟；

5、测定562nm处的吸光度，并记录读数；以不含BSA的样品的吸光值作为空白对照。

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。如果所得到的蛋白浓度不在标准曲线范围内，请稀释样品后重新测定。

**产品特点：**

1.灵敏度高，检测浓度下限达到25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ (在20-1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内有较好的线性关系)，最小检测蛋白量到0.2 $\mu\text{g}$ ，待测样品体积1-20 $\mu\text{L}$ 。

2. 常用浓度的去垢剂SDS，Triton X-100，Tween不影响检测结果，但受螯合剂(EDTA，EGTA)、还原剂(DTT，巯基乙醇)和脂类的影响。实验中，若发现样品稀释液或裂解液本身背景值较高，可试用Bradford蛋白浓度测定试剂盒（千株松，QS05002）。

**保存条件：**

BCA试剂A和B可以室温贮存；牛血清白蛋白标准溶液-20 $^{\circ}\text{C}$ 贮存；PBS溶液4 $^{\circ}\text{C}$ 贮存。

本试剂盒有效期1年。