



# BCA Protein Assay Kit

## BCA蛋白定量试剂盒

CAT. NO. ZJ0020

**储存条件:** BCA试剂A和B室温保存。蛋白标准品4度保存, 有效期一年;  
-20度可长期保存。

ZJ0020	包装
BCA蛋白定量分析试剂盒	500T

### 试剂盒组成:

Component	Volume
BCA试剂A	100ml
BCA试剂B	3ml
BSA蛋白标准品( 2mg/ml )	10ml

### 产品说明:

BCA蛋白定量分析试剂盒是一种基于二喹啉甲酸(BCA), 利用比色法测定总蛋白浓度的蛋白定量试剂盒, 具有高灵敏度和高稳定性的特点。原理为在碱性介质中, 蛋白质可将Cu<sup>2+</sup>(铜离子)还原成Cu<sup>+</sup>(亚铜离子)。BCA试剂和亚铜离子整合形成紫色显色物质, 在562nm处具有很强的吸光值。在很宽的蛋白质浓度范围(20-2000ug/ml)内, 吸光值和蛋白质浓度具有良好的线性关系。BCA蛋白定量分析试剂盒可与去污剂兼容。

### 使用说明:

- 1.每次测定样品浓度时, 均应绘制标准曲线, 使测量结果准确。
- 2.用同一种稀释液稀释蛋白标准品和待测样品(建议0.9%NaCl或PBS), 以保证结果的准确性。
- 3.在条件允许时, 每个BSA标准品和待测样品均建议测定两个平行反应(副孔), 以提高测量的准确性。
- 4.使用前请参照附表一, 确定待测样品中无超出耐受浓度的干扰物, 如EDTA最大耐受浓度为10mM。

## 操作步骤:

### 1. BSA标准品的制备

按蛋白标准品与稀释液(0.9%NaCl或PBS) 1比3配置0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的蛋白标准品,如取20  $\mu\text{l}$ 蛋白标准品加入60 $\mu\text{l}$ 稀释液;按下表配制梯度稀释的BSA标准品。

管号	稀释液体积( $\mu\text{l}$ )	0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 蛋白标准品体积( $\mu\text{l}$ )	BSA终浓度( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )
A	0	25	0.5
B	5	20	0.4
C	10	15	0.3
D	15	10	0.2
E	20	5	0.1
F	22.5	2.5	0.05
G	23.75	1.25	0.025
I (空白对照)	25	0	0

### 2. BCA工作液配制

根据所测样品和标准品的数量,将50份BCA试剂A与1份BCA试剂B充分混匀(50:1),制备工作液。

注:a.当试剂B加入到试剂A中时,可能有浑浊产生,经搅拌后迅速消失,得到苹果绿色工作液。

b.工作液储存于密闭容器中,在室温下可稳定保存24小时。

### 3.蛋白浓度测定

a.将稀释好的BSA标准品和待测样品各25 $\mu\text{l}$ 加入到96孔板中,待测样品浓度检测范围为20-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。注:加入提取蛋白5-25 $\mu\text{l}$ ,不足25 $\mu\text{l}$ 加入稀释液(0.9%NaCl或PBS)补足25 $\mu\text{l}$ 。

- b. 每孔加入200ulBCA工作液,充分混匀。
- c. 37度孵育30分钟。冷却至室温后,用酶标仪测定562nm或该波长附近(540nm-590nm)的吸光值。
- d. 绘制标准曲线,计算待测样品的蛋白浓度。

注:如有个别标准品吸光值偏离较大,应在绘制标准曲线时去除。如待测样品浓度超出测量上限(2000ug/ml),应稀释后再次测定。

干扰物质	耐受浓度	干扰物质	耐受浓度
Ammonium sulfate	1.5M	Deoxycholic acid	5%
EPPS, pH 8.0	100mM	NP-40	5%
Glycine·HCl, pH2.8	100mM	SDS	5%
Guanidine·HCl	4M	Triton X-100	5%
HEPES, pH 7.5	100mM	Tween-20	5%
Imidazole, pH 7.0	50mM	EDTA	10mM
MOPS, pH7.2	100mM	DTT	1mM
PIPES, pH6.8	100mM	Glucose	10mM
Sodium azide	0.2%	2-Mercaptoethanol	0.01%
Sodium bicarbonate	100mM	DMSO	10%
Sodium chloride	1M	Ethanol	10%
Tris	250mM	Glycerol	10%