

BCA 蛋白定量试剂盒

产品简介

BCA 蛋白定量法是利用蛋白质可将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ ，而生成的 Cu^+ 可与 BCA 形成紫色络合物的原理来定量检测蛋白含量。该方法快速、稳定、选择性好，不受蛋白种类影响、且在一定浓度范围内受表面活性剂影响小，成为目前应用最广泛的蛋白定量方法之一，可实现对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。本试剂盒标准品采用高质量 BSA 且可以 4°C 保存，使实验更精准便捷。

使用方法

1. 按下表在酶标板中做蛋白标准品稀释。稀释时，先向每孔加入对应体积二次水，再按照蛋白浓度由低到高的顺序依次加入蛋白标准品溶液，混匀。标准孔稀释好后，再根据需要进行空白孔中加入原样或稀释后的样品溶液，每孔 $20\mu\text{L}$ 。建议标准孔和样品孔均做 3 次平行对照。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
二次水 (μL)	20	19.5	19	18	16	12	8	4	0
蛋白标准品 (μL)	0	0.5	1	2	4	8	12	16	20
蛋白含量 (μg)	0	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	12.0	16.0	20.0

2. 工作液按照 BCA 试剂 A 和 BCA 试剂 B 以 50:1 的比例混合，每孔加 $200\mu\text{L}$ ，混匀。
所需工作液总体积 $\mu\text{L} = 200\mu\text{L} \times \text{总孔数} \times 1.1$ 。1.1 系数可自行调整，保证每孔有足量工作液加入即可。
3. 将酶标板放入水浴锅中（不可将酶标板浸于水中）， 37°C 孵育 30 min 或目测更合适时间，如样本蛋白浓度过低也可 60°C 孵育，孵育时如酶标板盖板冷凝水较多时，可用吸水纸擦去。孵育结束后，用酶标仪或 nano drop 测定每孔 562 nm 处的吸光值。
4. 以每孔蛋白含量为横坐标，标准品每孔吸光度减去空白孔吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，并计算样品孔蛋白含量。计算样品孔蛋白含量时，所用吸光度值应扣去空白孔数值。样品蛋白浓度 $\mu\text{g}/\mu\text{L} = \text{标准曲线计算出的样品孔蛋白含量 } \mu\text{g} \div 20\mu\text{L}$ ，如测定样品经过额外稀释，在计算原样时还应还应乘以稀释倍数。

注意事项：

- 蛋白标准品原液为 $1\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ，方便自行设计蛋白标准孔含量梯度。标准孔加入的蛋白标准品原液体积数 (μL) 即为该孔的蛋白绝对含量值 (μg)，再用二次水补足体积至 $20\mu\text{L}$ 即可。
- 本试剂盒每孔最小检测蛋白量为 $0.5\mu\text{g}$ 。
- 确保样品中 SDS、Triton X-100、Tween 等表面活性剂含量低于 5%，EDTA 低于 10 mM，无 EGTA，DTT、 β -巯基乙醇低于 1 mM。

贮存条件 BCA 试剂 A 与 BCA 试剂 B 室温保存，蛋白标准品 4°C 保存。

包装规格 BCA 试剂 A 50 mL，BCA 试剂 B 1 mL， $1\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 蛋白标准品 5mL。

