BCA Protein Quantification Kit

E112-01/02

Version 8.1

Vazyme biotech co., ltd.

产品简介

BCA蛋白浓度测定试剂盒（BCA Protein Quantification Kit），是目前灵敏度最高的蛋白质测定方法之一。在碱性条件下，蛋白质将Cu^{2+}还原为Cu^{+}，Cu^{+}与独特的BCA Reagent A（含有BCA）相互作用产生敏感的颜色反应，形成紫色的络合物。该水溶性的复合物在A562 nm处显示强烈的吸光性，吸光度和蛋白质浓度在广泛范围内有良好的线性关系，根据吸光值可以推算出蛋白浓度。因此，使用酶标仪测定其在A562 nm处的吸收值，并与标准曲线对比，即可计算待测蛋白的浓度。

常用浓度的去垢剂SDS，Triton X-100，Tween-20等不影响检测结果，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，可使用Bradford蛋白浓度测定试剂盒。

产品组成

组　分	E112-01 250 rxn	E112-02 500 rxn
BSA Standard (1 mg/ml)	2 × 1 ml	4 × 1 ml
BCA Reagent A	50 ml	100 ml
BCA Reagent B	1 ml	2 × 1 ml

储存条件

BCA Reagent A/B 2~ 8°C保存，BSA Standard -30~ -15°C保存。BCA Reagent A/B于2~ 8°C运输，BSA Standard 于-20~ 0°C运输。

使用方法

A．96孔酶标板测定：

1. BCA工作液配制。根据样品数量，按50体积BCA Reagent A加1体积BCA Reagent B (50:1)配制适量BCA工作液，充分混匀。
2. 标准曲线绘制。取一块酶标板，按下表数据加入试剂：

孔号	0	1	2	3	4	5	6	7
蛋白标准 (μl)	0	1	2	4	8	12	16	20
去离子水 (μl)	20	19	18	16	12	8	4	0
BCA工作液 (μl)	200	200	200	200	200	200	200	200
对应的蛋白含量 (μg)	0	1	2	4	8	12	16	20

3. 样品准备：将待测蛋白样品用去离子水稀释至适当浓度，取20 μl样品，加入200 μl BCA工作液。
4. 振荡混匀后，37℃放置20-30 min。
5. 用酶标仪测定A562 nm处的吸光值，以不含BSA的吸光值为空白对照。
6. 以蛋白含量(μg)为横坐标，吸光值为纵坐标，绘出标准曲线。
7. 根据测得的吸光值，在标准曲线上即可计算出样品的蛋白含量。
8. 计算蛋白浓度：以查得的蛋白含量除以样品体积20 μl，再乘以相应的稀释倍数即可得到待测样品的实际浓度。

B．比色皿测定

与以上方法相同，按照比色皿规格，适当按比例增加各溶液体积即可。

注意事项

◇ 需96孔酶标板，酶标仪一台，测定波长为A562 nm最佳。也可以使用分光光度计测定，但测定时，需根据比色皿的最小检测体积，适当加大BCA工作液的使用量使不小于最小检测体积，样品和标准品的用量可相应按比例放大也可不变。使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。

◇ 长期不用时，Reagent A/B可置于2-8℃保存，如发现细菌污染则应丢弃。Reagent A试剂在低温条件下出现结晶沉淀时，可37℃孵育使其完全溶解, 不影响使用。

◇ 如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，请使用诺唯赞生产的Bradford蛋白浓度测定试剂盒。

◇ 进行BSA标准蛋白标准曲线绘制时，使用样品蛋白的溶解液溶解BSA最优。

◇ BCA试剂对去污剂不敏感，可兼容SDS 3%、Tween-20 5%、EDTA 15 mM、无EGTA、Triton X-100 5%；对还原剂比较敏感，可兼容DTT 0.5 mM、β-巯基乙醇 0.07%。

◇ BCA工作液配制过程中吸取Reagent A液和Reagent B液务必更换吸头，工作液新鲜配制后应立即使用，长时间放置会影响检测灵敏度。

◇ 最好使用塑料比色皿，如使用玻璃比色皿或石英比色皿，使用后立即用少量95%的乙醇清洗。

◇ 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

附表

以下是不干扰BCA方法测定的物质浓度上限：

成分	兼容浓度
葡萄糖	10 mM
辛基糖苷	5.0%
乙酸钠, pH5.5	200 mM
蔗糖	40%
Ammonium Sulfate	1.5 M
Brij-35	5.0%
CHAPS	5.0%
DTT	0.5 mM
EDTA	15 mM
Emulgen	1.0%
Glycine, pH2.8	100 mM
Guanidine•HCl	4.0 M
Hepes	100 mM
Tween-20	5.0%
NaOH	0.1 M
NP-40	5.0%
SDS	3.0%
Sodium Chloride	1.0 M
TritonX-100	5.0%
Urea	3.0 M