



BCA Protein Assay Kit

BCA蛋白定量试剂盒

目录号：CW0014S (500 microplate assays or 50 tube assays)

保存条件：BSA Standard Solution: 2-8°C, 其它组分：室温 (15-30°C)。

产品内容

Component	CW0014S 500 microplate assays or 50 tube assays
BCA-A	2×50 mL
BCA-B	3 mL
BSA Standard Solution (2mg/mL)	2 mL

产品简介

BCA蛋白定量法是目前广泛使用的蛋白定量方法之一。本产品是基于BCA (Bicin-choninic Acid) 法研制而成, 实现了对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。其原理是在碱性环境下蛋白质分子中的肽链结构能与 Cu^{2+} 络合生成络合物, 同时将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ 。BCA试剂可敏感特异地与 Cu^+ 结合, 形成稳定的有颜色的复合物。在562 nm处有高的光吸收值, 颜色的深浅与蛋白质浓度成正比, 可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量。本试剂盒含有牛血清白蛋白 (BSA) 溶液作为蛋白质标准品溶液, 测定范围为20~2000 $\mu\text{g/mL}$ 。

注意事项

1. 本产品可以采用分光光度计(试管检测法)或者酶标仪(微孔检测法)测定蛋白浓度。
2. 建议每次测定蛋白样品时,绘制标准曲线,以获得准确数据。
3. BSA标准品的稀释液需与待测样品的稀释液一致(可用1×PBS或0.9%生理盐水稀释)。
4. 如待测样品中含较多的干扰物质(具体见附表1),可采用Bradford法蛋白定量试剂盒(CW0013)或其他蛋白定量产品。

操作步骤

1. 稀释BSA标准品:用与待测蛋白样品相一致的稀释液按下表稀释BSA标准品。

管号	稀释液用量(μL)	BSA标准品用量(μL)	BSA标准品最终浓度(μg/μL)
A	0	100	2
B	200	200	1
C	200	200(从B管中取)	0.5
D	200	200(从C管中取)	0.25
E	200	200(从D管中取)	0.125
F	200	200(从E管中取)	0.0625
G	200	0	0(空白)

BCA工作液总量=(BSA标准品样本个数+未知样本个数)×复孔数×每个样本BCA工作液体积

举例:BSA标准品样本个数为7个,未知样本个数2个,复孔数3个。

试管检测法:

BCA工作液总量=(7个BSA标准品样本+2个未知样本)×3个复孔×2 mL/每个样本工作液体积=54 mL

微孔检测法:

BCA工作液总量=(7个BSA标准品样本+2个未知样本)×3个复孔×200 μL/每个样本工作液体积=5.4 mL

2. 根据计算出的BCA工作液需要总量,将BCA-A和BCA-B按照50:1的体积比,配制BCA工作液,充分混匀。

注意: 1) 由于加样可能存在误差,建议配制BCA工作液时,多配制1-2个孔。

2) 新配制的BCA工作液室温密封条件下可稳定保存24小时。

3. 定量检测

3a. 试管检测法（蛋白浓度检测范围：20-2000 $\mu\text{g/mL}$ ）

- 1) 按上表，将稀释好的A-G BSA标准品和待测蛋白样品（原液或稀释液）各100 μL 分别加到作好标记的试管中。推荐每个测定的样本做2-3个平行反应。
- 2) 向每个试管中各加入2 mL BCA工作液，充分混匀，37°C水浴中孵育30分钟，将各管冷却至室温，须在3-5分钟内完成检测。
- 3) 用分光光度计在562 nm处，测定每个样品及BSA标准品的吸光值，同时做好记录。
- 4) 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

3b. 微孔检测法（蛋白浓度检测范围：20-2000 $\mu\text{g/mL}$ ）

- 1) 按上表，将稀释好的A-G BSA标准品和待测蛋白样品（原液或稀释液）各25 μL 分别加到作好标记的96孔板微孔中。推荐每个测定的样本做2-3个平行反应。
- 2) 每孔加入200 μL BCA工作液，充分混匀，盖上96孔板盖，37°C孵育30分钟，冷却至室温，须在3-5分钟内完成检测。
- 3) 用酶标仪在540-590 nm范围内，测定每个样品及BSA标准品的吸光值，同时做好记录。
- 4) 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

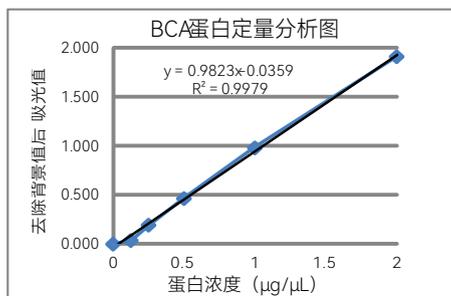
注意：1) BCA法测定蛋白浓度时，吸光值会随着时间的延长不断加深。因此所有样品测定需在3-5分钟内完成，否则会影响蛋白定量的准确度。

- 2) 建议以去除背景值后的吸光值读数绘制标准曲线。
- 3) 由于操作误差导致标准品读数严重偏离线性曲线的应舍去。
- 4) 未知样品浓度可以从标准曲线方程中计算得出，实际浓度需要乘以样品的稀释倍数。
- 5) 如果得到的蛋白浓度不在检测范围内，请重新稀释样品后再次测定。

4. BCA蛋白定量分析结果举例：

微孔板检测法结果

蛋白浓度 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	原始吸光值	去除背景值后的吸光值
0	0.086(背景值)	0.000
0.125	0.123	0.037
0.25	0.280	0.194
0.5	0.551	0.465
1	1.068	0.982
2	2.000	1.913



附表

附表1. 干扰物质表

化合物	耐受浓度	化合物	耐受浓度
缓冲液		去垢剂和变性剂	
乙酸盐	0.2M	Brij35	1%
甘氨酸	1M	CHAPS	1%
HEPES	0.1M	盐酸胍	4M
MES	50mM	NP -40	1%
MOPS	50mM	辛葡糖	1%
Na ⁺ -柠檬酸	< 1mM	SDS	1%
PIPES	50mM	Triton X -100	1%
磷酸钠	0.1M	糖类	
乙酸钠	0.2M pH 5.5	葡萄糖	10mM
TES	50mM	蔗糖	1M
Tris	0.1M	螯合剂	
盐类		EDTA	10mM
硫酸铵	干扰	还原剂	
NaCl	1M	β-巯基乙醇	50μM
尿素	3M	DTT	1mM
极性化合物		其他	
DMSO	5%	脂类	干扰
甘油	10%	HCl/NaOH	0.1M