

## BCA 蛋白定量试剂盒

**货号:** JHN0224/JHN0223/JHN3156

**规格:** 200次/500次/5000次

**保存:** BCA 试剂A和B在4℃保存, 蛋白标准品在-20℃保存, 一年有效。

### 产品简介:

蛋白质定量是蛋白质研究的基础工作之一。BCA(bicinchoninic acid)是理想的蛋白质定量方法;是当前比 Lowry 法更优越的专用于检测总蛋白质含量的产品。该方法以快速灵敏、稳定可靠,对不同种类蛋白质检测的变异系数非常小而倍受专业人士的青睐。BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响。在组织细胞裂解实验中,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。该产品不受此影响,因此与之配合使用,可免除您实验中的许多烦恼。该试剂盒在31.25--2000ug/ml浓度范围内较好的线性关系。

### 基本原理:

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,吸光度强度与蛋白浓度成正比。测定其在 562nm 处的吸收值,并与标准曲线对比,即可计算待测蛋白的浓度。

### 使用说明:

配制工作液:根据标准品和样品数量,按50体积 BCA 试剂 A 加 1 体积 BCA 试剂 B (50:1)配制适量 BCA 工作液,充分混匀。

2、稀释标准品:将标准品储存液稀释至 31.25~2000ug/ml,推荐使用去离子水或 0.9% NaCl。

管号	稀释液体积	标准品体积	终浓度
A	360ul	240ul (5mg/ml)	2000ug/ml
B	300ul	300ul (从A 管取)	1000ug/ml
C	300ul	300ul (从B 管取)	500ug/ml
D	300ul	300ul (从 C 管取)	250ug/ml
E	300ul	300ul (从D 管取)	125ug/ml
F	300ul	300ul (从 E 管取)	62.5ug/ml
G	300ul	300ul (从 F 管取)	31.25ug/ml
H	300ul	0ul	0ug/ml (空白)

- 3、将 25u1 的标准品和合适浓度范围的样本（比如 5u1样品+20u1稀释液）分别添加于96孔板的微孔中。
- 4、各孔加入200u1BCA工作液，充分混匀。
- 5、盖上 96 孔板盖，37℃孵育 30 分钟（如果浓度较低，可适当提高孵育温度或延长孵育时间）。
- 6、冷却到室温，用酶标仪测定 A562，根据标准曲线计算出蛋白浓度（样品的蛋白终浓度需乘以相应的稀释倍数）。

#### **注意事项：**

低温条件或长期保存出现沉淀时，可搅拌或 37℃温育或微波几十秒使溶解，如发现细菌污染则应丢弃。

样品中若含有EDTA、EGTA、DTT、硫酸铵、脂类会影响检测结果，请试用本公司Bradford（货号WB0128）蛋白浓度测定试剂盒，高浓度的去垢剂也影响实验结果，可用TCA沉淀去除干扰物质。

要得到更为精确的蛋白浓度结果，每个蛋白梯度和样品均需做复孔且标准品与样品处理要尽量一样（如采用同样的溶液溶解样品和标准品），每次均应做标准曲线。

当试剂 A 和 B 混合时可能会有浑浊，但混匀后就会消失。

需准备 37℃水浴或温箱、酶标仪或普通分光光度计，测定波长为 540-595nm 之间，562nm 最佳。酶标 仪需与 96 孔酶标板配套使用。使用分光光度计测定蛋白浓度时，试剂盒测定的样品数量会因此而减少。

使用温箱孵育时，应注意防止因水分蒸发影响检测结果。