

BCA 蛋白定量试剂盒说明书

BCA Protein Quantitation Kit Instruction

AP0011M

产品信息

产品名称	产品货号	规格
BCA 蛋白定量试剂盒 BCA Protein Quantitation Kit	AP0011M	500 T

保存条件

常温保存。蛋白标准溶液 4 度保存。

BCA 蛋白浓度测定试剂盒（BCA Protein Assay Kit）是根据目前世界上最常用蛋白浓度检测方法之一——BCA 法研制而成，实现了蛋白浓度测定的简单，高稳定性，高灵敏度和高兼容性。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，但受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保 EDTA 低于 10 mM，无 EGTA，二硫苏糖醇（DTT）低于 1 mM，β-巯基乙醇（β-Mercaptoethanol）低于 0.01%。

产品特点

- **检测范围广：**检测浓度下限达到 25 μg/mL，最小检测蛋白量达到 0.5 μg，待测样品体积为 1-20 μL，标准曲线设定范围 25-1000 μg/mL；
- **兼容性高：**可以兼容样品中高达 5%的 SDS，5%的 Triton X-100，5%的 Tween20、60、80；
- **使用便捷、品质稳定：**标准品 4 度保存，无需分装冻存。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格
		AP0011M(500 T)
AP0011-A	BCA 试剂 A	100mL
AP0011-B	BCA 试剂 B	5mL
AP0011-C	蛋白标准溶液 (1.0 μg/μL)	2×5mL

操作步骤

1. 标准孔溶液配制：取一块酶标板，按照下表加入试剂，先加去离子水，然后加蛋白标准溶液。

孔号	1	2	3	4	5	6	7	8
蛋白标准溶液 (μL)	0	0.5	1	2	4	8	14	20
去离子水 (μL)	20	19.5	19	18	16	12	6	0
对应蛋白含量 (μg)	0	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	14.0	20.0

2. 样本溶液稀释：估计待测样本浓度，做数个稀释（一般细胞样本建议稀释 10 倍，组织样本建议稀释 20 倍），以保证待测孔蛋白含量落入标准曲线检测范围内。将待测样本原液（可选）和稀释后的样本加入空白孔中；

建议：标准孔溶液和待测样本溶液做 3 次重复孔，使数据最终结果更加可靠；

3. 工作液配制：根据标准孔的数量，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，充分混匀后，每孔加入 200 μL BCA 工作液；

建议：把标准孔溶液和待测样本溶液都加入酶标板后，再统一且快速地加入已配置好的 BCA 工作液；

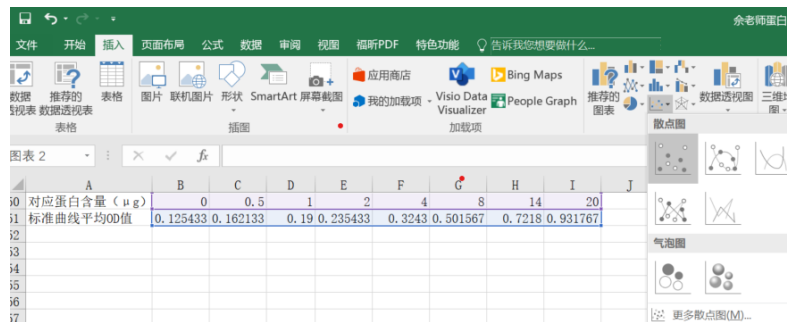
4. 孵育、记录数据：轻晃酶标板 20s，使酶标板中试剂充分混匀。在 37°C 放置 30 分钟后，利用酶标仪测定 562nm 的吸光度值并记录；

5. 绘制标准曲线

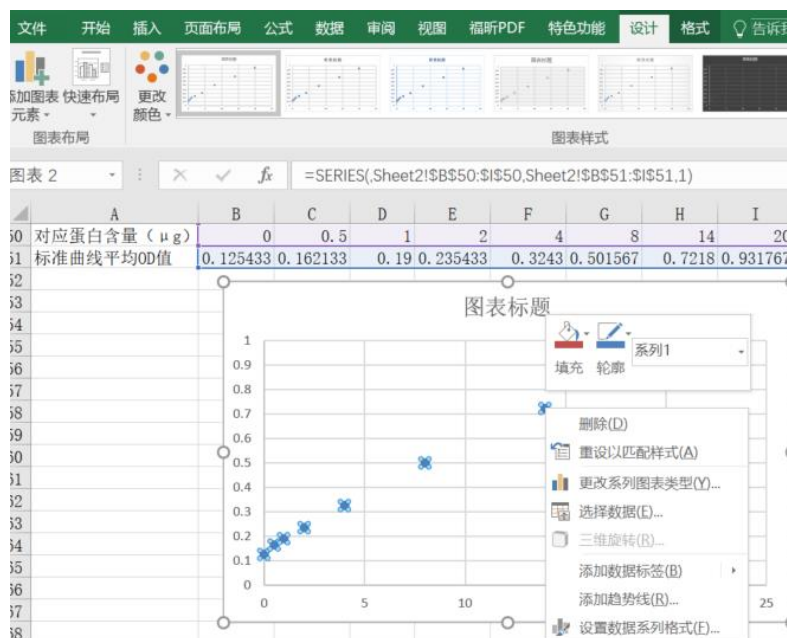
- ① 在 Excel 表中根据已测定的标准孔溶液和待测样本溶液的吸光度值算出 3 次重复孔的平均吸光度值（若某一重复孔的吸光度值与其他 2 次相比差距很大，则此孔的吸光度值删去，不计算此值）；
- ② 把标准孔溶液所对应的蛋白含量照抄在 Excel 表中，列成一横排，在其正对着的下方表格中把前面求得的标准孔溶液的平均吸光度值复制到此处（蛋白含量在上方，吸光度值在下方）；

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
50	对应蛋白含量 (μg)	0	0.5	1	2	4	8	14	20
51	标准曲线平均OD值	0.125433	0.162133	0.19	0.235433	0.3243	0.501567	0.7218	0.931767

- ③ 同时选中步骤②中的两行数值，点击 Excel 表左上方工具栏中的插入—图表—XY 散点图，点击确定；



- ④ 完成后会弹出一个图表（此图表以蛋白含量（ μg ）为横坐标，吸光值为纵坐标），点击图表里面的散点，右键添加趋势线；



- ⑤ 完成后 Excel 表右侧弹出设置趋势线格式，点击勾选最底下显示公式（E）以及显示 R^2 值。则在图表中显示出公式和 R^2 值（ R^2 值 >0.99 则说明该方程数值可靠，可进一步运算）
6. 计算样本蛋白含量：根据图中的方程式把待测样本溶液平均吸光度值代入其中，求出待测样本对应的蛋白含量（ μg ）；
7. 计算样本蛋白浓度：用待测样本孔蛋白含量（ μg ）除以样品稀释液总体积（ $20\mu\text{L}$ ），再乘以样品稀释倍数即为样品实际浓度（单位： $\mu\text{g} / \mu\text{L}$ ）。

注意事项

1. 建议每次测定时都做标准曲线。因为 BCA 法测定时颜色会随着时间的延长不断加深，

并且显色反应的速度和温度有关，所以除非精确控制显色反应的时间和温度，否则如需精确测定宜每次都做标准曲线；

2. 如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，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；
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用。