

## BCA 蛋白定量试剂盒使用说明书

### 【产品名称】

产品编号	产品名称	包装
EK-5001	BCA Protein Assay Kit	200/500/1000 次

### 【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5001A	BCA 试剂 A	40ml/100ml/200ml
EK-5001B	BCA 试剂 B	2ml/5ml
EK-5001C	蛋白标准品, 5mg/ml BSA 溶液	1ml
	使用说明书	1 份

### 【保存条件】

室温避光保存, 有效期 1 年

### 【概述】

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的两种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。灵敏度高, 检测浓度下限达到 25 $\mu$ g/ml, 最小检测蛋白量达到 0.5 $\mu$ g, 待测样品体积为 1-20 $\mu$ l。在 50-2000 $\mu$ g/ml 浓度范围内有较好的线性关系。

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, 可以兼容样品中高达 5%的 SDS, 5%的 Triton X-100, 5%的 Tween20、60、80。但本试剂盒受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响, 需确保 EDTA 低于 10mM, 无 EGTA, 二巯苏糖醇(DTT) 低于 1mM,  $\beta$ -巯基乙醇( $\beta$ -Mercaptoethanol)低于 0.01%。不适用 BCA 法时建议使用本司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒 (EK-5002)。

### 【操作方法】

#### 1. 配制 BCA 工作液:

依据样品数量, 将试剂 A 和试剂 B 按体积比 50:1 配制适量 BCA 工作液, 并充分混匀。

注: 配制 BCA 工作液前请将试剂 A 摇晃混匀, 观察是否析出结晶, 如若析出结晶, 可 37 $^{\circ}$ C 水浴促溶。

#### 2. 稀释蛋白标准品:

蛋白样品在什么溶液中, 标准品也宜用什么溶液稀释。但是为了简便起见, 如果蛋白样品所在溶液不含有干扰本试剂盒检测的物质, 也可以用 0.9%NaCl、PBS 或水稀释标准品。蛋白标准液(5mg/ml BSA)如果冻存, 请完全融化并混匀后使用。具体如下表:

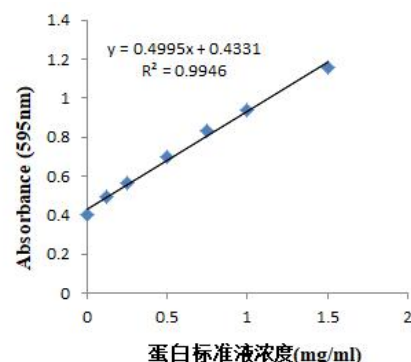
编号	稀释液体积	蛋白标准液体积	最终浓度
A	70 $\mu$ l	5mg/ml BSA 30 $\mu$ l	1.5mg/ml
B	30 $\mu$ l	从 A 管取 60 $\mu$ l	1mg/ml
C	20 $\mu$ l	从 B 管取 60 $\mu$ l	0.75mg/ml
D	30 $\mu$ l	从 C 管取 60 $\mu$ l	0.5mg/ml
E	60 $\mu$ l	从 D 管取 60 $\mu$ l	0.25mg/ml
F	60 $\mu$ l	从 E 管取 60 $\mu$ l	0.125mg/ml
G	60 $\mu$ l	0 $\mu$ l	0mg/ml

### 3. 蛋白浓度的检测

- 取 5 $\mu$ l 不同浓度蛋白标准加到 96 孔板的蛋白标准孔中。
- 取 5 $\mu$ l 样品到 96 孔板的样品孔中。如果样品不足 5 $\mu$ l，需加标准品稀释液补足到 5 $\mu$ l。请注意记录样品体积。
- 各孔加入 195 $\mu$ l BCA 工作液。 37 $^{\circ}$ C 放置 30 分钟。  
注:也可以室温放置 2 小时，或 60 $^{\circ}$ C 放置 30 分钟。BCA 法测定蛋白浓度时，颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应会因温度升高而加快，如果浓度较低，适合在较高温度孵育，或适当延长孵育时间。
- 用酶标仪测定最优波长为 562nm，或 540-595nm 之间的其它波长的吸光度。可以立即测定吸光度，也可以在 2 小时内测定，2 小时内检测数据无显著变化。

### 4. 数据计算

- 以不同浓度的蛋白标准液为横坐标
- 以不同浓度的蛋白标准测得 OD 值（多孔则为平均 OD）为纵坐标
- 建立线性关系，获得公式（如右图中所示(本产品实际检测)，若测得样品 OD=0.6 则  $0.6=0.4995x+0.4151$ ，计算得浓度  $x=0.37\text{mg/ml}$ ）



#### 【注意事项】

- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 不同 96 板的吸收值会有不同，得到 OD 有区别为正常现象（保证数据呈线性关系）。
- 蛋白标准液（5mg/ml）收到-20 $^{\circ}$ C 保存可延长有效期。
- BCA 试剂 A 在低温环境下会析出结晶，可适当 37 $^{\circ}$ C 水浴促溶后使用。
- 请使用 96 孔底部透明板（如普通细胞培养板）检测，最佳波长为 595nm。