



**产品货号:** B6169

**产品规格:** 500T

**储存条件:** A、B 组分 4°C、BSA 标准品-20°C可稳定保存 1 年，具体批次有效期见外包装，A、B 组分可短期室温保存

## 产品组分

组分	B6169 (500T)
A. 试剂 A	100 mL
B. 试剂 B	1.5 mL×2
C. BSA 标准品① (2000 µg/mL)	1 mL
D. BSA 标准品② (1500 µg/mL)	1 mL
E. BSA 标准品③ (1000 µg/mL)	1 mL
F. BSA 标准品④ (750 µg/mL)	1 mL
G. BSA 标准品⑤ (500 µg/mL)	1 mL
H. BSA 标准品⑥ (250 µg/mL)	1 mL
I. BSA 标准品⑦ (125 µg/mL)	1 mL
J. BSA 标准品⑧ (0 µg/mL)	1 mL

## 产品介绍

BCA 蛋白定量试剂盒是一种基于二喹啉甲酸 BCA (Bicinchoninic Acid)，利用比色法测定总蛋白浓度的试剂盒，是目前广泛使用的蛋白定量方法之一。其原理为在碱性条件下蛋白质中的肽键将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^+$ ，BCA 螯合  $\text{Cu}^+$  作为显色剂，产生蓝紫色复合物并在 562 nm 处有吸收峰，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。

BCA 蛋白定量试剂盒 (即用型) 是在常规 BCA 蛋白定量试剂盒基础上研制的含有一系列浓度的蛋白质标准品 (BSA 溶液)，即取即用，无需稀释，方便快捷。

## 使用方法

### 一. 蛋白标准溶液 (BSA) 准备

将配套即用型 BSA 标准品-20°C 冰箱取出室温融化，上下颠倒混匀备用。

### 二. BCA 工作液配制

1. 计算确定所需的工作液的总体积：

BCA 工作液的总量 = (BSA 标准品样本个数 + 待测样本个数) × 复孔数 × 每个样本所需 BCA 工作液的体积

举例：本次试剂盒质检需要做 BSA 标准品样本个数为 8 个，待测样本个数 3 个，复孔数为 3 个。

BCA 工作液的总量 = (8+3) × 3 × 200 µL (每个样本工作液体积) = 6.6 mL



UElandy Inc.

Tel: 0512-88965152

Web: www.uelandy.com

2. 根据计算出的BCA工作液的体积，将试剂A与试剂B按照50:1的体积比，配制BCA工作液，并充分混匀。

注：1) 由于加样可能存在误差，建议配制工作液的时候多配制1~2个孔的量；

2) 当试剂B加入到试剂A时，开始可观察到有浑浊产生，属于正常现象，经搅拌后浑浊会迅速消失，得到苹果绿色澄清工作液。

### 三. 蛋白浓度测定（96孔板为例）

1. 取各个稀释浓度的BSA标准品20  $\mu$ L，加入到96孔透明板中；
2. 在每个孔中加入200  $\mu$ L工作液充分混匀，盖上96孔板，37°C恒温培养箱孵育30分钟；
3. 用酶标仪测定每个样品及BSA标准品的A562或者540~590 nm之间的其它波长的吸光度；
4. 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度。

注：1) 每个样品及BSA标准品的A562需要减去空白对照的吸光度；

2) 数据处理时需要剔除明显异常的点或者数值；

3) 样品浓度如果太高超过上限（2000  $\mu$ g/mL）应该适当进行稀释，样品浓度太低建议适当浓缩。

**附表 干扰物质耐受浓度**

干扰物质	耐受浓度	干扰物质	耐受浓度
Ammonium sulfate	1.5 M	Deoxycholic acid	5%
EPPS, pH 8.0	100 mM	NP-40	5%
Glycine HCl,pH2.8	100 mM	SDS	1%
Guanidine HCl	4 M	Triton X-100	5%
HEPES, pH 7.5	100 mM	Tween-20	5%
Imidazole, pH 7.0	50 mM	EDTA	2 mM
MOPS, pH7.2	100 mM	DTT	0.1 mM
PIPES, pH6.8	100 mM	Glucose	10 mM
Sodium azide	0.2%	2-Mercaptoethanol	0.01%
Sodium bicarbonate	100 mM	DMSO	10%
Sodium chloride	1 M	Ethanol	10%
Tris	250 mM	Glycerol	10%
EGTA	1 mM	$\beta$ -巯基乙醇	150 $\mu$ M

### 注意事项

1. 试剂 A 如果低温条件下出现絮状结晶时，可 37°C使其完全溶解，不影响使用。
2. 蛋白标准溶液（BSA）最好提前放到室温融化，并且上下颠倒混匀。
3. 建议每次测定蛋白样品时，都要绘制标准曲线，使测量结果准确。
4. 为了提高样品测量结果的准确性，样品浓度不宜太高或者太低，否则需要提前稀释或者浓缩。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

