

# 产 品 说 明 书

## BCA 蛋白定量检测试剂盒

产品货号: B6167S, B6167

产品规格: 50T, 500T

产品内容:

| 组分 \ 规格               | B6167S (50T) | B6167 (500T) |
|-----------------------|--------------|--------------|
| A. BCA Reagent A      | 10 mL        | 100 mL       |
| B. BCA Reagent B      | 0.3 mL       | 3 mL         |
| C. BSA蛋白标准品 (2 mg/mL) | 0.2 mL       | 2 mL         |

## 储存条件

A 和 B 组分短时间常温储存, 长时间 2-8℃, C 组分短时间 2-8℃, 长时间-20℃。有效期见外包装。

## 产品介绍

BCA 蛋白定量检测试剂盒是一种基于二喹啉甲酸 (BCA), 利用比色法测定总蛋白浓度的蛋白定量试剂盒。原理为在碱性介质中, 蛋白质可将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^+$ 。BCA 试剂和亚铜离子整合形成紫色显色物质, 在 562 nm 处具有很强的吸光值。利用吸光值和蛋白浓度的线性关系, 推算出蛋白浓度。

UElancy 提供的 BCA 蛋白定量检测试剂盒可检测 20-2000  $\mu\text{g/mL}$  范围的蛋白质浓度, 且不受绝大部分样品中去污剂等化学物质的影响, 如可以兼容样品中高达 5% 的 SDS, 5% 的 Triton X-100, 5% 的 Tween-20。在测定范围内有良好的线性关系, 变异系数小。

## 使用方法

### 一、BSA 标准品准备

按下表配制梯度稀释的 BSA 标准品。

| 管号 | 稀释液体积 ( $\mu\text{L}$ ) | BSA 体积 ( $\mu\text{L}$ ) 和来源 | BSA 终浓度 ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) |
|----|-------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| A  | 0                       | 100 (BSA 原液)                 | 2                                     |
| B  | 40                      | 120 (BSA 原液)                 | 1.5                                   |
| C  | 100                     | 100 (BSA 原液)                 | 1                                     |
| D  | 50                      | 50 (B 管稀释液)                  | 0.75                                  |
| E  | 100                     | 100 (C 管稀释液)                 | 0.5                                   |



|      |     |              |        |
|------|-----|--------------|--------|
| F    | 100 | 100 (E 管稀释液) | 0.25   |
| G    | 100 | 100 (F 管稀释液) | 0.125  |
| H    | 100 | 100 (G 管稀释液) | 0.0625 |
| 空白对照 | 100 | 0            | 0      |

## 二、BCA 工作液配制

根据所测样品和标准品的数量，将 50 份 BCA 试剂 A 与 1 份 BCA 试剂 B 充分混匀（50：1），制备工作液。

**注：**当试剂 B 加入到试剂 A 中时，可能有浑浊产生，经搅拌后迅速消失，得到苹果绿色工作液。工作液储存于密闭容器中，在室温下可稳定保存 24 h。

## 三、蛋白浓度测定（96 孔板举例）

1. 每孔加入 200  $\mu$ L BCA 工作液。
2. 将稀释好的 BSA 标准品和待测样品各 20  $\mu$ L 加入到孔板中（用加样枪轻轻吹打混匀，注意不要产生气泡）。
3. 37°C 孵育 30 min。冷却至室温后，用酶标仪测定 562 nm 的吸光值或该波长附近（540 nm-590 nm）的吸光值。
4. 绘制标准曲线，计算待测样品的蛋白浓度。

**注：**如有个别标准品吸光值偏离较大，应在绘制标准曲线时去除。如待测样品浓度超出测量上限（2000  $\mu$ g/mL），应稀释后重新设置标准曲线进行测定。

## 附表一 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, pH 2.8 | 100 mM | SDS               | 5%    |
| Guanidine-HCl       | 4 M    | Triton X-100      | 5%    |
| HEPES, pH 7.5       | 100 mM | Tween-20          | 5%    |
| Imidazole, pH 7.0   | 50 mM  | EDTA              | 10 mM |
| MOPS, pH 7.2        | 100 mM | DTT               | 1 mM  |
| PIPES, pH 6.8       | 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%   |

## 注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
2. 在条件允许时，每个 BSA 标准品和待测样品均建议测定  $\geq 2$  个平行反应（副孔），以提高测量的准确性。
3. 每次测定样品浓度时，均应绘制标准曲线，使测量结果准确。



4. 试剂 A 在使用前需摇晃匀混。
5. 用同一种稀释液稀释蛋白标准品和待测样品（建议 0.9% NaCl 或 PBS），以保证结果的准确性。
6. 使用前请参照附表一，确定待测样品中无超出耐受浓度的干扰物。

