蛋白浓度测定（BCA 法）

试剂盒

Cat. Number: SL201

For Research Only

概述:

简介： BCA 蛋白浓度测定试剂盒是基于双辛可宁酸（BCA bicinchoninic acid）的去污剂竞争的配方，用于显色测定和总蛋白定量，是最常用蛋白含量检测方法。检测原理是碱性条件下蛋白将 Cu+2 还原为 Cu+1（双缩脲反应），一个 Cu+1 与二个 BCA 分子螯合后产生紫色水溶性反应产物，在 562nm 波长具有强烈的吸收，与 20-2000μg/mL 范围的蛋白浓度呈近线性关系，检测下限达到 25μg/mL，最小检测蛋白量达到 0.5μg，待测样品体积为 1-20μL，可实现蛋白浓度测定的高灵敏度和高特异性。

BCA 法具有高兼容性，即抗干扰能力，可以兼容样品中高达 5%的 SDS，5%的 Triton X-100，5%的 Tween20、60、80。但本品易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，二硫苏糖醇(DTT)低于 1mM，β-巯基乙醇低于 0.01%。不适用 BCA 法时建议使用 Bradford 蛋白定量法。

组成:

货号	组份	250T	储存条件	有效期
SL201-A	**A 液**	50mL	2-8℃	12 个月
SL201-B	**B 液**	1mL	2-8℃	12 个月
SL201-C	**蛋白标准液 2mg/ml**	2×1.5mL	2-8℃	12 个月

说明：酶标板 250 次，比色皿 50 次。

A 液和 B 液推荐室温放置，如果遇到结晶，或者有沉淀物，请放到水浴锅里加热至 25℃，混匀即可。

酶标板测定方法:

1. 取一块酶标板，按照下表（标准曲线）加入试剂

孔号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
蛋白标准溶液(uL)	0	0.5	1	2.5	5	7.5	10	15	20
去离子水(uL)	20	19.5	19	17.5	15	12.5	10	5	0
对应蛋白浓度(ug/uL)	0	0.05	0.1	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2

2.根据样品数量，按 50 体积的 A 液加 1 体积的 B 液（50:1）配制成 BCA 工作液，充分混匀；

3.各孔加入 200μL BCA 工作液；

4.盖上酶标板，置振荡器上振荡 30s，移至 37℃温箱，孵育 30min；

5.冷却至室温，上酶标仪，测定 562nm 波长的吸光值（540-590nm 均可测定）；

6.以蛋白浓度为横坐标，吸光值为纵坐标，绘出标准曲线；

7.稀释待测样品至合适浓度，使样品稀释液总体积为 20μL，加入 BCA 工作液 200μL，充分混匀，37℃放置 30min 后，以标准曲线 0 号孔做参比，在 562nm 波长下比色，记录吸光值；

8.根据所测样品的吸光值，在标准曲线上即可查得相应的蛋白浓度。

注意事项：

1.混合好的 BCA 溶液 24 小时稳定。

2.加入 BCA 工作液后，也可以在室温放置 2h。BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度会随着时间的延长不断加深，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（如 60℃放置 30min）。