



BCA 蛋白浓度测定试剂盒

Catalog WB0029

Tel: 010-82908854

Quantity 2500 微孔

Free: 400-0620-621

Web: www.tdybio.com

For research use only.

产品规格：微板法 2500T

产品简介：BCA 蛋白定量法原理是在碱性条件下，蛋白将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ， Cu^+ 与 BCA 试剂形成紫色络合物，其吸光值与蛋白浓度成正比。测定在 562nm 处的吸收值，做标准曲线并计算待测蛋白的浓度。本试剂盒检测灵敏度高，对不同种类蛋白质检测变异系数小，操作简单。

产品组成：

产品	规格	贮存
试剂 A	100ml	RT
试剂 B	3ml	RT
BSA (2mg/ml)	2ml	2-8°C (常温运输)

操作步骤：

1. 稀释标准品：用与样品相同缓冲体系的稀释液按下表稀释标准品（建议稀释液用 PBS 或者生理盐水）

管号	稀释液用量 (μl)	标准品用量 (μl)	最终浓度 ($\mu\text{g/ml}$)
A	0	100	2000
B	100	100	1000
C	100	100 (从 B 管中取)	500
D	100	100 (从 C 管中取)	250
E	100	100 (从 D 管中取)	125
F	100	100 (从 E 管中取)	62.5
G	100	100 (从 F 管中取)	31.25
H	100	0	0(空白)

2. 配置 BCA 工作液：根据标准品和样品的数量，将试剂 A 和试剂 B 以 50: 1 的体积比混匀。

3. 试管检测（线性范围：20-2000 $\mu\text{g/ml}$ ）

- 1) 将 0.1ml 样品与稀释好的标准品分别添加于试管中；
- 2) 向各试管中加入 2ml BCA 工作液，37°C 水浴中孵育 30min 或者 RT 孵育 2h (样品: BCA 工作液=1: 20)；
- 3) 37°C 孵育的样品需要冷却至室温；
- 4) 用分光光度计测定 562nm 处的吸光值（若无 562nm 滤光片可以选择接近波长的滤光片进行测定，比如 560nm 或者 570nm）；
- 5) 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度；
- 6) 如果所得到的蛋白浓度不在检测范围内，请重新稀释样品至 BCA 线性范围内进行再次测定。

4. 微孔板检测（线性范围：20-2000 $\mu\text{g/ml}$ ）

- 1) 将 25 μl 样品与稀释好的标准品分别添加于 96 孔板的微孔中；
- 2) 各孔中加入 200ul BCA 工作液，充分混匀（样品: BCA 工作液=1: 8）
- 3) 盖上 96 孔板盖，37°C 孵育 30 分钟或者室温孵育 2h；

- 4) 37°C孵育的样品需要冷却至室温；
- 5) 用酶标仪测定 562nm 处的吸光值（若无 562nm 滤光片可以选择接近波长的滤光片进行测定，比如 560nm 或者 570nm）；
- 6) 绘制标准曲线，计算样品中的蛋白浓度；
- 7) 如果所得到的蛋白浓度不在检测范围内，请重新稀释样品至 BCA 线性范围内进行再次测定。

干扰物质

化合物	耐受浓度	化合物	耐受浓度
缓冲液		去垢剂和变性剂	
乙酸盐	0.2M	Brij35	1%
甘氨酸	1M	CHAPS	1%
HEPES	0.1M	盐酸胍	4M
MES	50mM	NP-40	1%
MOPS	50mM	辛葡糖	1%
Na ⁺ -柠檬酸	<1mM	SDS	1%
PIPES	50mM	Triton X-100	1%
磷酸钠	0.1M	糖类	
乙酸钠	0.2M pH 5.5	葡萄糖	10mM
TES	50mM	蔗糖	1M
Tris	0.1M	螯合剂	
盐类		EDTA	10mM
硫酸铵	干扰	还原剂	
NaCl	1M	β-巯基乙醇	50μM
尿素	3M	DTT	1mM
极性化合物		其他	
DMSO	5%	脂类	干扰
甘油	10%	HCl/NaOH	0.1M