



## BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)

### 说明书

#### 【产品简介】

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 10 $\mu$ g/ml, 最小检测蛋白量达到 0.2 $\mu$ g, 待测样品体积为 1-20 $\mu$ l。在 20-1000 $\mu$ 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 Tween 20,60,80。但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, 二硫苏糖醇低于 1mM,  $\beta$ -巯基乙醇低于 0.01%。每个试剂盒可以检测 200 个样品。

#### 【试剂盒组成】

试剂盒组成	NWQ003 (200 次)
BCA 试剂 A	40ml
BCA 试剂 B	1.2ml
蛋白标准(BSA)	20mg
蛋白标准配制液	1ml
说明书	1 份

#### 【试剂运输及储存条件】

试剂运输可在常温环境下进行。储存时, BCA试剂 A须置4 $^{\circ}$ C保存, 蛋白标准配制成溶液后-20 $^{\circ}$ C冻存, 其余组分可保存在室温。本试剂盒有效期为12个月, 在有效期内使用。

#### 【实验注意】

1. 实验需酶标仪测定波长为 540-595nm 之间, 562nm 最佳。需 96 孔板。如果没有酶标仪, 可使用普通的分光光度计测定, 测定时, 需根据比色皿的最小检测体积, 适当加大 BCA 工作液的用量使不小于最小检测体积, 样品和标准品的用量可相应按比例放大也可不变。使用分光光度计测定蛋白浓度时, 可以测定的样品数量可能会显著减少。
2. 如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景, 请试用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(NWQ001)。
3. 为了加快 BCA 法测定蛋白浓度的速度可以适当用微波炉加热, 但是切勿过热。
4. EDTA浓度必需小于10mM, 不兼容EGTA。不适用BCA法时, 请试用Bradford蛋白浓度测定试剂盒(NWQ001)。

#### 【操作步骤】

1. 取 0.8ml 蛋白标准配制液加入到蛋白标准(20mg BSA)中, 充分溶解后配制成 25mg/ml 的蛋白标准溶液。配制后可立即使用, 也可以-20 $^{\circ}$ C长期保存。(注意: 配制蛋白标准溶液前, 低速离心蛋白标准(BSA)数秒)
2. 取适量 25mg/ml 蛋白标准, 稀释至终浓度为 0.5mg/ml。例如取 20 $\mu$ l 25mg/ml 蛋白标准, 加入 980 $\mu$ l 稀释液即可配制成 0.5mg/ml 蛋白标准。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, 也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 稀释标准品。稀释后的 0.5mg/ml 蛋白标准也可以-20 $^{\circ}$ C长期保存。
3. 根据样品数量, 按 50 体积 BCA 试剂 A 加 1 体积 BCA 试剂 B(50:1)配制适量 BCA 工作液, 充分混匀。例如 5ml BCA 试剂 A 加 100 $\mu$ l BCA 试剂 B, 混匀, 配制成 5.1ml BCA 工作液。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。
4. 将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 $\mu$ l 加到 96 孔板的标准品孔中, 加标准品稀释液补足到 20 $\mu$ l。
5. 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中, 加标准品稀释液到 20 $\mu$ l。
6. 各孔加入 200 $\mu$ 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。
7. 测定 A562, 540-595nm 之间的波长也可接受。根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。