



蛋白定量试剂使用说明书

【产品名称】

产品通用名称：蛋白定量试剂

产品商用名称: **BCA法蛋白定量试剂盒**

【包装规格】

PP1001 (200 次) /PP1002 (500 次) /PP1003 (2500 次)

【检验原理】

BCA(bicinchoninic acid)法蛋白浓度定量试剂盒是在世界上常用的蛋白浓度检测方法之一 BCA 法基础上改进而成。众所周知，二价铜离子在碱性的条件下，可以被蛋白质还原成一价铜离子 (biuret reaction)，一价铜离子和独特的 BCA Solution A (含有 BCA) 相互作用产生敏感的颜色反应。两分子的 BCA 螯合一个铜离子，形成紫色的反应复合物。该水溶性的复合物在 562nm 处显示强烈的吸光性，吸光度和蛋白浓度在广泛范围内有良好的线性关系，因此根据吸光值可以推算出蛋白浓度。

【产品特点】

1. 步骤简单，45 分钟内完成测定，比经典的 Lowry 法快 4 倍而且更加方便。
2. 灵敏度高，检测浓度下限达到 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，最小检测蛋白量达到 0.5 μg ，待测样品体积为 1-20 μL 。
3. BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的去污剂等化学物质的影响，可以兼容样品中高达 5%的 SDS，5%的 Triton X-100，5%的 Tween 20, 60, 80。
4. 在 20-2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内有良好的线性关系。
5. 检测不同蛋白质分子的变异系数远小于考马斯亮蓝法蛋白定量。

【主要组成成分】

试剂盒由蛋白标准 (5mg/mL BSA)，Solution A，Solution B，使用说明书和合格证组成。主要组分及储存条件见表 1。

表 1 试剂盒组成、储存

试剂盒组成	PP1001	PP1002	PP1003	保存
蛋白标准 (5mg/mL BSA)	0.2mL	0.5mL	1.5mL × 2	-20°C
Solution A	40mL	100mL	500mL	室温
Solution B	1.2mL	2.5mL	12mL	室温

【储存条件及有效期】

- 1、蛋白标准 (5mg/mL BSA) 在-20°C条件下保存；其他试剂可常温保存。
- 2、本产品有效期为一年，请在有效期内使用。
- 3、为了避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

【使用方法】

1. 使用时将 Solution A 摇晃混匀，根据样品数量，按 50 体积 Solution A 加 1 体积 Solution B (50:1) 配制适量 BCA 工作液，充分混匀。BCA 工作液室温 24 小时内稳定。

2. 取 10 μ L 蛋白标准品(5mg/mL BSA) 稀释至 100 μ L，使终浓度为 0.5mg/mL。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。

3. 将**稀释后标准品 (0.5mg/mL BSA)** 按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μ L 分别加到酶标板中，加标准品稀释液将所有标准品**补足到 20 μ L**。

4. 加适当体积样品到酶标板中，加标准品稀释液到 **20 μ L**。

5. 各孔加入 200 μ L BCA 工作液，轻轻用加样枪吹打混匀（注意不要弄出气泡影响读数）37°C放置 30-60 分钟。

注：也可以根据需要在室温放置 2 小时，或 60°C放置 30 分钟。BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度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，或延长孵育时间。

6. 冷却到室温后，用酶标仪测定 A562，或 540-590nm 之间的其它波长的吸光度。

7. 根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

【注意事项】

1. 标准品稀释时，如果吸量不准确或者加样枪不精确会造成标准曲线相关系数减小，可根据需要使用倍比梯度稀释的方法来稀释，或者使用精确度高的加样枪。

2. Solution A和Solution B混合成工作液时可能会有浑浊，但充分振荡混匀后就会消失，

成为淡绿色的透明溶液。

3. 需酶标仪一台,测定波长为540-590nm之间,562nm最佳。需酶标板。如果没有酶标仪,也可以使用普通的分光光度计测定,但是测定蛋白浓度时,需根据测定吸光度的杯子的体积,按比例调整A液,B液和样品的体积。使用分光光度计测定蛋白浓度时,每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。

4. BCA蛋白定量试剂盒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, β -巯基乙醇低于1mM。不适用BCA法时建议使用百泰克生物的Bradford法蛋白定量试剂盒。还可以考虑用超纯水稀释,透析/除盐,ACETONE/TCA沉淀蛋白后重溶于超纯水等方法来消除干扰物质的影响。

5. 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。

6. 如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景,请试用百泰克生物的Bradford法蛋白定量试剂盒。

【生产企业】

企业名称:无锡百泰克生物技术有限公司

注册地址:无锡惠山经济开发区惠山大道1719-5号四层A区

生产地址:无锡惠山经济开发区惠山大道1719-5号四层A区

邮政编码:214100

电话/传真:400-678-8982

网址:www.bioteke.cn

【说明书核准及修改日期】

说明书修改日期 2019年01月15日