

Version: EC 4.0 (2024.10.23修订)

## BCA蛋白浓度测定试剂盒

目录号: EC0001

### 01/产品组分

序号	组分	500T	2500T
		EC0001-A	EC0001-B
1	BCA 试剂	100 mL	125mL × 4
2	Cu 试剂	3 mL	15 mL × 1
3	PBS 稀释液	30 mL	75 mL × 2
4	BSA 蛋白标准 (5 mg/mL BSA)	1 mL	1 mL × 5

### 02/保存条件

BCA试剂, Cu试剂以及PBS稀释液均可保存于室温, BSA蛋白标准保存于-20°C。有效期1年。

### 03/产品概述

本试剂盒能够提供一个碱性环境, 在蛋白质的还原作用下,  $\text{Cu}^{2+}$ 被还原成 $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^+$ 能够与BCA试剂形成紫色络合物, 测定其在562 nm处的吸收值, 根据标准品在该条件下的吸收值得到的标准曲线, 计算得到蛋白浓度。标准曲线的线性范围为20-2000  $\mu\text{g/mL}$ 。

### 04/注意事项

#### 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇如若长期不用时, Cu 试剂与 PBS 稀释液可置于 2-8°C保存, 适当延长保质期, 如发现细菌污染则应丢弃。
- ◇样品中若含有较多干扰物质时, 请采用思科捷生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒 (EC0002)。
- ◇BCA 试剂在低温条件下出现结晶沉淀时, 可 37°C温育使其完全溶解, 不影响使用。
- ◇为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 05/使用方案

#### 提示:

#### ◇微孔酶标仪法

1. 配制工作液: 按50体积BCA试剂加1体积Cu试剂 (50:1) 配制成BCA工作液, 充分混匀, 若混合之后, 出现浑浊现象, 属于

正常现象，充分混匀之后便会消失。BCA工作液在室温条件下，24 h内较稳定。

- 标准品稀释：取10 μL BSA标准品，加入90 μL PBS，稀释至100 μL（样品一般可用PBS稀释），使BSA终浓度为0.5 mg/mL。将标准品按0，2，4，6，8，12，16，20 μL加到96孔板的蛋白标准品孔中，不足20 μL的孔，加PBS补足至20 μL，使得标准品浓度分别为0、0.05、0.1、0.15、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL。
- 将样品作适当稀释（根据实验需求，设置多个梯度，如作2倍、4倍、8倍稀释），加20 μL样品到96孔板的样品孔中。由于移液器在取少量样品时出现误差，标准线前面的点可能不很准确，所以尽可能的让样品点落在标准线后1/2处。
- 最后在各孔中加入200 μL BCA工作液，放置在37°C，孵育15-30 min。用酶标仪测定A562，根据得到的标准曲线，从而计算出蛋白浓度。使用温箱孵育时，应注意防止因水分蒸发影响检测结果。

#### ◇分光光度计法

如没有酶标仪，可用分光光度计在离心管中混匀后加入比色皿中比色。

步骤如下：

- 配制工作液：将 BCA 试剂与 Cu 试剂按照 50:1 的比例，混合，配置成 BCA 工作液，混合时可能出现浑浊现象，但充分混匀后会消失。BCA 工作液室温 24 h 内稳定。
- 标准品稀释：取 100 μL BSA 标准品用 PBS 稀释至 1 mL（样品一般可用 PBS 稀释），使终浓度为 0.5 mg/mL。
- 取八支（或者更多）5 mL 离心管，标上号，按下表加入试剂。

离心管	BSA	PBS	BCA 工作液
1	0	200 μL	2 mL
2	40 μL	160 μL	2 mL
3	80 μL	120 μL	2 mL
4	120 μL	80 μL	2 mL
5	160 μL	40 μL	2 mL
6	200 μL	0	2 mL
7 样品管 1	200 μL 适当稀释的 样品1	0	2 mL
8 样品管 2	200 μL 适当稀释的 样品2	0	2 mL
9 样品管 3	200 μL 适当稀释的 样品3	0	2 mL

4. 37°C条件下孵育 15-30 min。用分光光度计测 562 nm 处吸收值，做出标准曲线，并根据标准曲线计算出蛋白浓度。

## 06/相关产品

EC0002 Bradford蛋白浓度测定试剂盒

EA0002 RIPA裂解液（强）

SJ-MK0001 蛋白酶抑制剂Cocktail（EDTA-Free, 100× in DMSO）

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

