

## 即用型BCA蛋白定量试剂盒 使用说明书

### 【产品名称】

即用型BCA蛋白定量试剂盒

货号: HC0865

规格: 500T

保存条件: **组分A** 4℃保存; **组分B**-20℃可长期保存。

### 【产品组分】

| 组分A                    | Volume |
|------------------------|--------|
| BCA试剂A                 | 100ml  |
| BCA试剂B                 | 3ml    |
| 组分B                    |        |
| BSA蛋白标准品① (2μg/μl)     | 1.5ml  |
| BSA蛋白标准品② (1.5μg/ul)   | 1.5ml  |
| BSA蛋白标准品③ (1μg/μl)     | 1.5ml  |
| BSA蛋白标准品④ (0.75μg/ul)  | 1.5ml  |
| BSA蛋白标准品⑤ (0.5μg/ul)   | 1.5ml  |
| BSA蛋白标准品⑥ (0.25μg/ul)  | 1.5ml  |
| BSA蛋白标准品⑦ (0.125μg/ul) | 1.5ml  |
| BSA蛋白标准品⑧ (0μg/μl)     | 1.5ml  |

### 【产品说明】

BCA蛋白定量分析试剂盒是一种基于二喹啉甲酸(BCA),利用比色法测定总蛋白浓度的蛋白定量试剂盒,具有高灵敏度和高稳定性的特点。原理为在碱性介质中,蛋白质可将 $\text{Cu}^{2+}$ 还原成 $\text{Cu}^{+}$ 。

BCA试剂和亚铜离子整合形成紫色显色物质,在562nm处具有很强的吸光值。在很宽的蛋白质浓度范围(20-2000ug/ml)内,吸光值和蛋白质浓度具有良好的线性关系。BCA蛋白定量分析试剂盒可与去污剂兼容。

### 【使用说明】

- 1.每次测定样品浓度时,均应绘制标准曲线,使测量结果准确。
- 2.用同一种稀释液稀释蛋白标准品和待测样品(建议0.9%NaCl或PBS),以保证结果的准确性。
- 3.在条件允许时,每个BSA标准品和待测样品均建议测定两个平行反应(副孔),以提高测量的准确性。
- 4.使用前请参照附表一,确定待测样品中无超出耐受浓度的干扰物,如EDTA最大耐受浓度为10mM。

## 【操作步骤】

### 1. BCA工作液配制

根据所测样品和标准品的数量,将50份BCA试剂A与1份BCA试剂B充分混匀(50:1), 制备工作液。

注:a.当试剂B加入到试剂A中时,可能有浑浊产生,经搅拌后迅速消失,得到苹果绿色工作液。

b.工作液储存于密闭容器中,在室温下可稳定保存24小时。

### 2.蛋白浓度测定

a.将BSA标准品和待测样品各25ul加入到96孔板中,待测样品浓度检测范围为20-2000ug/ml。

注:加入提取蛋白5-25ul,不足25ul加入稀释液(0.9%NaCl或PBS)补足25ul。

b.每孔加入200ul BCA工作液,充分混匀。

c.37度孵育30分钟。冷却至室温后,用酶标仪测定562nm或该波长附近(540nm-590nm)的吸光值。

d.绘制标准曲线,计算待测样品的蛋白浓度。

注:如有个别标准品吸光值偏离较大,应在绘制标准曲线时去除。如待测样品浓度超出测量上限 (2000ug/ml),应稀释后再次测定。

附表一 干扰物质耐受浓度

| 干扰物质               | 耐受浓度  | 干扰物质              | 耐受浓度  |
|--------------------|-------|-------------------|-------|
| Ammonium sulfate   | 1.5M  | Deoxycholic acid  | 5%    |
| EPPS, PH 8.0       | 100mM | NP-40             | 5%    |
| Glycine-Hcl,pH2.8  | 100mM | SDS               | 5%    |
| Guanidine ·HCl     | 4M    | Triton X-100      | 5%    |
| HEPES, PH 7.5      | 100mM | Tween-20          | 5%    |
| Imidazole, pH 7.0  | 50mM  | EDTA              | 10mM  |
| MOPS, pH7.2        | 100mM | DTT               | 1mM   |
| PIPES,pH6.8        | 100mM | Glucose           | 10mM  |
| Sodium azide       | 0.2%  | 2-Mercaptoethanol | 0.01% |
| Sodium bicarbonate | 100mM | DMSO              | 10%   |
| Sodium chloride    | 1M    | Ethanol           | 10%   |
| Tris               | 250mM | Glycerol          | 10%   |

