

# BCA蛋白定量试剂盒说明书

产品货号: PA23228

产品规格: 微孔板法 (2500次) 比色皿法 (250次)

试剂盒组成	规格	数量
BCA Protein Assay Reagent A	250ml	2
BCA Protein Assay Reagent B	10ml	2
BSA Standard (2mg/ml)	1ml	2
说明书	份	1

注: 储存温度: 室温

**注意:** 试剂盒处于低温或长期保存过程中, Reagent A和Reagent B可能会产生沉淀, 可以通过加热的方式使沉淀溶解。如果发现微生物污染, 请立即丢弃试剂盒。

## 一. 标准品和WR工作液的配置:

### 1. 不同浓度BSA标准品制备

根据表1所示, 在干净的管中配置一套BSA蛋白标准品。

表1 不同浓度BSA标准品配置方法

编号	稀释液体积	BSA体积	BSA终浓度
A	0	300 $\mu$ l原液	2000 $\mu$ g/ml
B	125 $\mu$ l	375 $\mu$ l原液	1500 $\mu$ g/ml
C	325 $\mu$ l	325 $\mu$ l原液	1000 $\mu$ g/ml
D	175 $\mu$ l	175 $\mu$ l稀释液B	750 $\mu$ g/ml
E	325 $\mu$ l	325 $\mu$ l稀释液C	500 $\mu$ g/ml
F	325 $\mu$ l	325 $\mu$ l稀释液E	250 $\mu$ g/ml
G	325 $\mu$ l	325 $\mu$ l稀释液F	125 $\mu$ g/ml
H	400 $\mu$ l	100 $\mu$ l稀释液G	25 $\mu$ g/ml
I	400 $\mu$ l	0	0 $\mu$ g/ml=Blank

\*稀释液为去离子水

## 2. BCA工作液（WR）的配置

（1）用下面公式计算每次实验所需WR体积：

$$(\# \text{标准品} + \# \text{待测样品}) \times (\# \text{平行样}) \times (\text{每个样品所需WR体积}) = \text{所需WR体积}$$

注：用比色皿测试待测样品时，每个样品需要2.0ml的WR；用微孔板测试待测样品时，每个样品需要200 $\mu$ l的WR。

（2）WR液的配置，将50份的Reagent A与1份的Reagent B混合，配置成WR。

注：当Reagent B加入到Reagent A后，溶液会出现浑浊，混匀后浑浊会立即消失并变成绿色澄清液体，WR能够在室温密保容器中稳定保存几天。

## 二、比色皿法测定蛋白浓度标准方法（样品和WR工作液比率=1：20），操作流程如图1所示：

1. 吸取0.1ml的待测样品或者标准品加入到比色皿中；
2. 加2ml的WR工作液到含有待测样品或标准品的比色皿中混匀；
3. 加上盖子，将比色皿置于37摄氏度中抚育30分钟；
4. 冷却到室温；
5. 将分光光度计波长调整至562nm，用去离子水将仪器归零，然后测量所有样品的光吸收值（在10分钟内完成）；
6. 标准品和待测样品的光吸收值应该同时减去标准品I（Blank）的吸收值；
7. 绘制标准曲线，标准曲线的横坐标是标准品的蛋白质浓度，纵坐标是标准品的OD<sub>562</sub>的光吸收值；使用标准曲线去计算待测样品的蛋白质浓度；

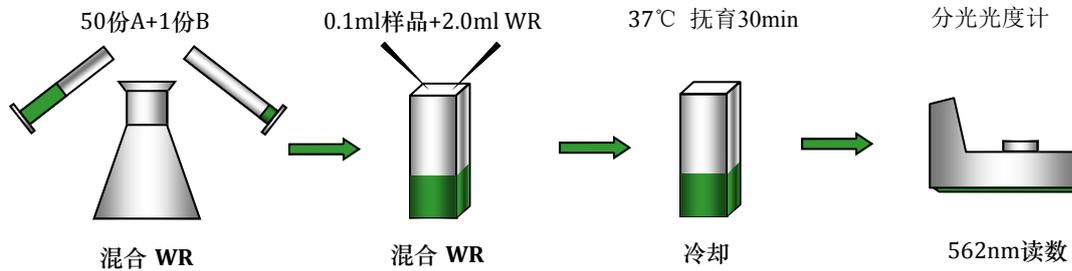


图1：比色皿法测量蛋白质浓度流程图

### 三. 微孔板法检测蛋白质浓度流程（待测样品与WR工作液的比率=1：8）

1. 吸取25 $\mu$ l的**标准品**或者**待测样品**分别加入到96孔板中；
2. 加200 $\mu$ l的WR工作液到每个待测样品或者标准品中，震荡30s；
3. 盖上盖子37摄氏度抚育30分钟；
4. 冷却到室温；
5. 用酶标仪或者微孔板读板机测量562nm的光吸收（波长540–590nm均可接受，如果使用高于562nm的波长测量，抚育时间提高至2小时）；
6. 标准品和待测样品的值应该同时减去标准品I（Blank）的吸收值；
7. 绘制标准曲线，标准曲线的横坐标是标准品的蛋白质浓度，纵坐标是标准品的OD<sub>562</sub>的光吸收值；使用标准曲线去计算待测样品的蛋白质浓度；