

BCA 蛋白浓度定量说明书

一、 检测原理

BCA 蛋白浓度检测是根据吸光值可以推算出蛋白浓度。碱性条件下，二价铜离子可以被蛋白质还原成一价铜离子，两分子的 BCA 螯合一个亚铜离子，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。

二、 组分和保存条件

成分	容量 (500 tests)	储存
Buffer A	100 mL	室温
Buffer B	1.2 mL×2	室温
蛋白标准品 (BSA)	20 mg	室温
PBS 溶液	15 mL	室温

三、 试剂配置

1. BCA 溶液配制：取 50 份试剂 A 与 1 份试剂 B 混合均匀。每次使用，现用现配。
2. BSA 标准品配制：称取 5 mg BSA 粉末，用 1 mL PBS 溶解，浓度 5 μ g/ μ L。分装保存于-20 $^{\circ}$ C。

注意事项：

1. 蛋白样品中含有还原剂和 EDTA 会影响实验结果。
2. 溶解后的蛋白标准品，长期保存需存放-20 $^{\circ}$ C。
3. 试剂盒长期不使用可存放至 4 $^{\circ}$ C。
4. 建议每次实验都制作标准曲线。

四、 实验方法（96 孔板为例）

1. 标准曲线的制作：取 BSA 标准蛋白液 0、1、2、4、8、10 μ L 每孔，用 PBS 补足 20 μ L。

标号	PBS	BSA 标准品	蛋白总量
1	20 μ L	0 μ L	0
2	19 μ L	1 μ L	5 μ g
3	18 μ L	2 μ L	10 μ g
4	16 μ L	4 μ L	20 μ g
5	12 μ L	8 μ L	40 μ g
6	10 μ L	10 μ L	50 μ g

- 待测蛋白液取 4 μL ，加 PBS 16 μL ，补足到 20 μL 。
- 每孔加入 200 μL 配制好的 BCA 溶液。
- 孔板放置到 37 $^{\circ}\text{C}$ 中 30 min。
- 酶标仪检测 562 nm 处吸光值。

五、实验案例

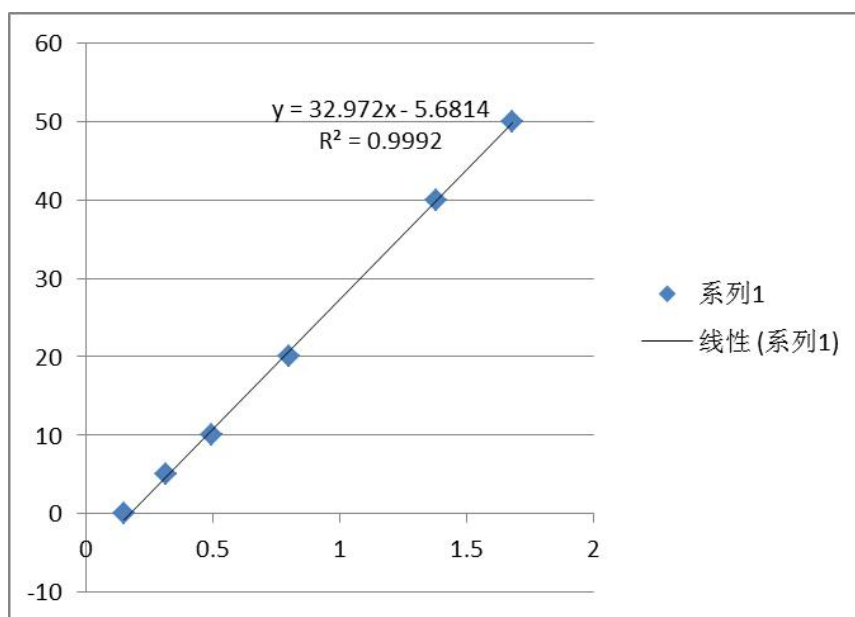


图 1. 标准曲线

如有疑问欢迎垂询

上海电话：021-51320195

上海技术邮箱：support@genepharma.com

苏州电话：0512-86668828

苏州技术邮箱：szsupport@genepharma.com

吉玛基因官网：<http://www.genepharma.com>



B053-V001A-20211018