

# M5 BCA Protein Assay kit 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 BCA Protein Assay kit	500T	MF071-01

## 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	500 次
蛋白标准 (5mg/ml BSA)	-20°C	0.5ml
Solution A	室温	50ml×2
Solution B	室温	2ml

本产品收到后按照上面指示温度存放各成份，至少一年内有效。蛋白标准长期保存-20°C放置，常温运输。

## 产品介绍:

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 整合一个铜离子，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 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 $\mu$ g/ml，最小检测蛋白量达到 0.5 $\mu$ g，待测样品体积为 1-20 $\mu$ l。
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 $\mu$ g/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。

## 注意事项

1. 蛋白标准请在**全部溶解后先混匀，再稀释**成一系列不同浓度的蛋白标准。标准品曲线配制时，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配制，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 96 孔板。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，需确保无 EGTA，EDTA 低于 10mM，二硫苏糖醇低于 1mM， $\beta$ -巯基

基乙醇低于 1mM。不适用 BCA 法时建议使用 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 Bradford 法蛋白定量试剂盒。

#### 操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

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. 完全溶解蛋白标准品(5mg/mlBSA), 取 **10 $\mu$ l 稀释至 100 $\mu$ l**, 使终浓度为 0.5mg/ml。蛋白样品在什么溶液中, 蛋白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 稀释蛋白标准品。
3. 步骤 3: 将**稀释后标准品 (0.5mg/mlBSA)** 按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 $\mu$ l 分别加到 96 孔板中, 加标准品稀释液补足到 **20 $\mu$ l**。
4. 加适当体积样品到 96 孔板的样品孔中, 加标准品稀释液补足到 **20 $\mu$ l**。
5. 各孔加入 **200 $\mu$ l** BCA 工作液, 用加样枪轻轻吹打混匀 (注意不要弄出气泡影响读数) 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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, 用酶标仪或者分光光度计测定 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。



#### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。