

BCA 蛋白浓度测定试剂盒

货号: E-BC-K318-M

方法: 比色法

检测仪器: 酶标仪 (540-590 nm, 最佳波长562 nm)

规格: 96T/500Assays

注意事项: 1. 样本中不能含 EGTA、EDTA 等螯合剂, 不能含有 DTT、巯基乙醇等还原性物质。
2. 样本测定总蛋白浓度: 样本背景值较高时, 推荐使用考马斯亮蓝法 (货号: E-BC-K168-S);
样本蛋白浓度较高时, 推荐使用双缩脲法 (货号: E-BC-K165-S)。

基本信息

用途 本试剂盒适用于检测血清、血浆、培养液、动植物组织及培养细胞样本中的蛋白含量

检测范围及灵敏度 检测范围: 0.0165-1 mg/mL 灵敏度: 0.0165 mg/mL

检测原理 蛋白质在碱性条件下将二价铜离子还原为一价铜离子, 一价铜离子与 BCA 分子形成紫色络合物。此络合物可用540-590 nm波长检测, 反应物的颜色和蛋白浓度在一定范围内具有线性关系。

提供试剂及物品

编号	名称	规格 1 (96T)	规格 2 (500 Assays)	保存方式
试剂一 (Reagent 1)	BCA溶液 (BCA Reagent)	25 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	室温保存12个月
试剂二 (Reagent 2)	铜盐溶液 (Copper Salt Solution)	0.5 mL×1 支	3 mL×1 瓶	室温保存12个月
试剂三 (Reagent 3)	蛋白标准品 (Standard)	1 mg×1 支	1 mg×5 支	室温保存12个月
试剂四 (Reagent 4)	标准品稀释液 (Standard Diluent)	15 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	室温保存12个月
	96 孔酶标板	96孔×1块	/	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

注: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同批次试剂盒中的试剂不能混用。

试剂准备

① 1 mg/mL蛋白标准品的配制:

取1 mL试剂四加入一支试剂三中, 溶解混匀即可。置于冰上待用, 可分装-20°C保存3个月。

For Research Use Only

Tel: 400-999-2100

Web: www.elabscience.cn

Email: techsupport@elabscience.cn

② BCA 工作液的配制:

按试剂一：试剂二为50：1的体积比混匀，现用现配，于2-8℃保存24 h。

标曲浓度稀释表

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 (mg/mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0
1 mg/mL 标准品 (μL)	0	20	40	60	80	120	160	200
标准品稀释液 (μL)	200	180	160	140	120	80	40	0

操作步骤

① 标准孔：取20 μL不同浓度的标准品，加入到对应的标准中；

样本孔：加入20 μL的待测样本。

② 向步骤①中各孔垂直悬空加入200 μL的BCA工作液。

③ 酶标仪上，振荡混匀20 s。

④ 覆膜，37℃反应30 min。

⑤ 酶标仪562 nm测定OD值。

注：试剂加入酶标孔时，应触酶标板底加入；加样要慢，避免产生气泡。（气泡影响测定结果）

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

蛋白含量计算公式：

$$\text{蛋白含量 (mg/mL)} = (\Delta A_{562} - b) \div a \times f$$

注解:

a: 标曲斜率

b: 标曲截距

y: 标准品OD值-空白OD值（标准品浓度为0 mg/mL时对应的OD值）

x: 标准品浓度 (mg/mL)

ΔA_{562} : 样本测定OD值-空白OD值（标准品浓度为0 mg/mL时对应的OD值）

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

For Research Use Only