

CAT#: GZ040501



蛋白浓度测定试剂盒 (BCA 法)

使用手册 V2.1

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

BCA 蛋白浓度测定试剂盒是基于双辛可宁酸（BCA bicinchoninic acid）的去污剂竞争的配方，用于显色测定和总蛋白定量，是最常用蛋白含量检测方法。

检测原理是碱性条件下蛋白将 Cu^{2+} 还原为 Cu^{1+} （双缩脲反应），一个 Cu^{1+} 与二个 BCA 分子螯合后产生紫色水溶性反应产物，在 562 nm 波长具有强烈的吸收，与 20-2000 $\mu\text{g/mL}$ 范围的蛋白浓度呈近线性关系，检测下限达到 25 $\mu\text{g/mL}$ ，最小检测蛋白量达到 0.5 μg ，待测样品体积为 1-20 μL ，可实现蛋白浓度测定的高灵敏度和高特异性。

BCA 法具有高兼容性，即抗干扰能力，可以兼容样品中高达 5% 的 SDS，5% 的 Triton X-100，5% 的 Tween 20、60、80。本品易受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保 EDTA 低于 10mM，无 EGTA，二硫苏糖醇(DTT)低于 1 mM， β -巯基乙醇低于 0.01%。不适用 BCA 法时建议使用 Bradford 蛋白定量法。

成分规格

产品组分	GZ040501(250T)
BCA 法 A 液	50 mL
BCA 法 B 液	1 mL
蛋白标准品 2mg/ml	2 $\times$ 1.5 mL

规格说明:酶标板 250 次，比色皿 50 次；

特说明: BCA 法 A 液和 BCA 法 B 液可室温放置，A 液属于饱和溶液，低温会有沉淀析出，属于正常现象，温水浴或室温条件下，溶解混匀即可。

保存及运输

常温运输，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存，保存期限为 12 个月。

使用方法

酶标板测定法标准曲线绘制

1. 取一块酶标板，按照下表加入试剂：

孔号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
蛋白标准品 (μl)	0	0.5	1	2.5	5	7.5	10	15	20

去离子水 (μl)	20	19.5	19	17.5	15	12.5	10	5	0
对应蛋白浓度 (mg/ml)	0	0.05	0.1	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2

2. 根据样品数量，按 50 体积的 BCA 法 A 液加 1 体积的 BCA 法 B 液(50:1)配制成 BCA 工作液，充分混匀。
3. 各孔加入 200 μl BCA 工作液。
4. 盖上酶标板，置振荡器上振荡 30s，移至 37℃温箱，孵育 30min。
5. 冷却至室温，上酶标仪，测定 562nm 波长的吸光值(540-590nm 均可测定)。
6. 以蛋白浓度为横坐标，吸光值为纵坐标，绘出标准曲线。

样品测定

7. 稀释待测样品至合适浓度，使样品稀释液总体积为 20 μl，加入 BCA 工作液 200 μl，充分混匀，37℃放置 30min 后，以标准曲线 0 号孔做参比，在 562nm 波长下比色，记录吸光值。
8. 根据所测样品的吸光值，在标准曲线上即可查得相应的蛋白浓度。

注意事项

- 配制好的混合 BCA 工作液室温 24h 内稳定。
- 加入 BCA 工作液后，也可以在室温放置 2h。BCA 法测定蛋白浓度时，吸光度会随着时间的延长不断加深，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(如 60℃放置 30min)。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ040005B	SDS-PAGE 彩色浓缩胶制备试剂盒
GZ040008	8% SDS-PAGE 分离胶制备试剂盒
GZ040010	10% SDS-PAGE 分离胶制备试剂盒
GZ040302	SDS-PAGE 分离胶制备试剂盒
GZ040101	预染彩色蛋白 Marker (10-180kDa)
GZ040102	预染彩色蛋白 Marker (6.5-270kDa)
GZ040103	预染彩色蛋白 Marker (10-180kDa)



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯