**BCA蛋白质定量试剂盒**

**货号：KTSM3201**

**■ 产品简介：**

BCA蛋白质定量试剂盒是根据目前世界上最常用的两种蛋白浓度检测方法中的BCA（bicinchoninic acid）法研制而成，实现了对蛋白质进行快速、稳定、灵敏的浓度测定。本试剂盒的原理是蛋白质分子中的肽键结构在碱性环境下能与 Cu 2+ 生成络合物，并将 Cu 2+ 还原成 Cu + ，而BCA试剂可敏感特异地与 Cu + 结合，形成稳定的有颜色的复合物，并在562 nm处有最大光吸收值，该复合物颜色深浅与蛋白质浓度成正比，可根据吸收值的大小来测定蛋白质的含量。

本产品介绍了两种检测方案。在这两种方案中，试管检测方案要求蛋白质样品的体积较大（0.1 ml），方案中使用的样品与工作液之间的比例为1：20（v/v），因此最大程度地降低了干扰物质的影响。微孔板方案操作样品更加方便，且需要的蛋白样品的体积较小（10-25 µl），但是，由于所使用的样品与工作液之间的比例为1：8（v/v），因此该方法与试管法相比，在克服干扰物质对测定结果的影响方面灵活度低、且检测浓度较低的蛋白样品不如试管法灵敏。

本试剂盒含有牛血清白蛋白（BSA）溶液作为蛋白质标准溶液，测定范围为20-2000 µg/ml。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM3201** |
| BCA试剂A | 100 ml |
| BCA试剂B | 3 ml |
| BSA标准品（2 mg/ml) | 2 ml |

**■ 保存条件**：

BCA试剂A和BCA试剂B室温保存，BSA标准品-20℃保存。

**■ 注意事项：**

1. 测值范围：OD540 -OD590，分别测定 OD540，OD562以及OD590的吸收值，标准曲线均为线性，OD562测值最高；
2. 标准曲线的线性范围为20-2000 µg/ml；
3. 工作液配制之后24 h内使用对标准曲线无影响。

**■ 操作步骤：**

1.标准品的稀释：用与样品相同缓冲体系的稀释剂按下表对BSA标准品进行稀释：

BSA标准浓度配制表

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 管号 | 稀释剂体积 | BSA体积（来源） | BSA最终浓度（µg/ml） |
| A | 0 µl | 300 µl（母液） | 2000 |
| B | 125 µl | 375 µl（母液） | 1500 |
| C | 325 µl | 325 µl（母液） | 1000 |
| D | 175 µl | 175 µl（B管） | 750 |
| E | 325 µl | 325 µl（C管） | 500 |
| F | 325 µl | 325 µl（E管） | 250 |
| G | 325 µl | 325 µl（F管） | 125 |
| H | 400 µl | 100 µl（G管） | 25 |
| I | 400 µl | 0 µl | 0（空白对照） |

2.配制BCA工作液：依据样品数量，将试剂A和试剂B按体积比50：1配制适量BCA工作液，并充分混匀。

**注：配制BCA工作液前请将试剂A摇晃混匀。**

3.标准比色杯测定方法：

（1）吸取0.1 ml的每种标准品和待测样品置于合适的管中；

（2）加入2.0 ml的BCA工作液,彻底混匀；

（3）加盖，37℃孵育30 min后冷却至室温或室温放置2 h；

（4）用紫外分光光度计于562 nm处检测其吸光度；

（5）根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。

4.微管测定方法：

（1）分别取25 µl表格中新鲜配制的BSA标准液和待测样品，加入到96孔板中；

（2）每孔中加入200 µl BCA工作液，并充分混匀；

（3）加盖，37℃孵育30 min后冷却至室温或室温放置2 h；

（4）用紫外分光光度计于562 nm处检测其吸光度；

（5）根据标准曲线计算出样品中的蛋白浓度。