

Protein Content Assay Kit

蛋白含量试剂盒说明书 (BCA 法)

货号: G0418F | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

BCA 蛋白含量试剂盒提供一种简单, 快速, 耐去污剂 (最多 5%) 的检测蛋白质浓度的方法。由于蛋白质能将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ ; BCA 可与 Cu^+ 结合生成紫蓝色复合物, 在 562nm 处有最大光吸光值, 颜色的深浅与蛋白含量成正比, 因此可根据吸光值测定蛋白质浓度。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂 A	液体 50mL×1 瓶	4°C 保存	依据实验用量, 临用前试剂 A:B=50:1 的比例混匀成反应 mix
试剂 B	液体 1mL×1 支	4°C 保存	
标准品	液体 1.5mL×1 支	4°C 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、恒温水浴锅、移液器。

四、蛋白含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 (提取液可选用酶提取缓冲液、蒸馏水、生理盐水) 冰浴匀浆, 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清, 即待测液。

【注】: 依据研究经验, 一般需将样本粗提液稀释到适当倍数再进行测定, 如 10 倍。实验前可以先选 2 个样本测定, 摸索确定适合本次实验的稀释倍数。

② 细菌或细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液; 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清, 即待测液。

【注】: 依据研究经验, 一般需将样本粗提液稀释到适当倍数再进行测定, 如 10 倍。实验前可以先选 2 个样本测定, 摸索确定适合本次实验的稀释倍数。

③ 液体样本: 澄清无色液体样品可以直接测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min, 调节波长到 562 nm, 蒸馏水调零。

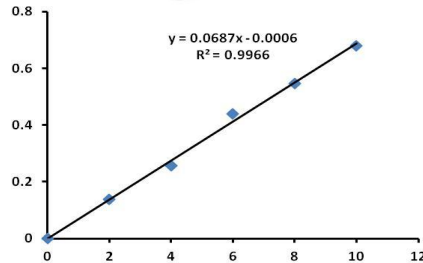
② 反应 mix 置于 60°C 水浴预热 30 min (仅煮一次即可)。

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一次)
样本	20	
蒸馏水		20
反应 mix	800	800
混匀, 于 60°C 保温 30min, 全部转移到 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 562nm 处测定吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0687x - 0.0006$ ； x 是标准品质量： μg ， y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、 $\text{Cpr (mg/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0687 \times 10^{-3}] \div (V1 \div V \times W) \times D$

$$= 0.728 \times (\Delta A + 0.0006) \div W \times D$$

3、 $\text{Cpr (mg/mL)} = [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0687 \times 10^{-3}] \div V1 \times D = 0.728 \times (\Delta A + 0.0006) \times D$

4、 $\text{Cpr } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0006) \div 0.0687] \div (V1 \div V \times 500) \times D = 1.46 \times (\Delta A + 0.0006) \times D$

V---提取液体积：1mL；

V1---加入粗提液体积：0.02mL；

W---样本质量：g；

D---稀释倍数，未稀释即为1；

500---细菌或细胞总数，万。