

Protein Content Assay Kit

蛋白含量试剂盒说明书（BCA 法）

货号：G0420W | 方法：微板法 | 规格：196 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℃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℃保存	
标准品	液体 1.5mL×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、恒温水浴锅、移液器和蒸馏水。

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℃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℃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 酶标仪预热 30min，调节波长到 562 nm。

② 反应 mix 置于 60℃水浴预热 30 min（仅煮一次即可）。

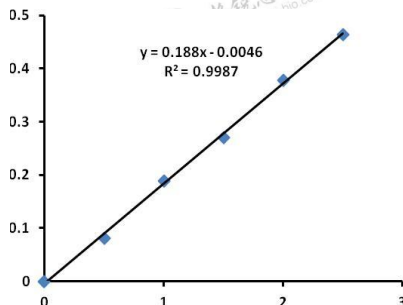
③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	空白管（只做一次）
样本	5	
蒸馏水		5
反应 mix	200	200
混匀，于 60℃保温 30min， 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： $y = 0.188x - 0.0046$ ； 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、 $\text{Cpr (mg/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0046) \div 0.188 \times 10^{-3}] \div (V1 \div V \times W) \times D$
 $= 1.06 \times (\Delta A + 0.0046) \div W \times D$

- 3、 $\text{Cpr (mg/mL)} = [(\Delta A + 0.0046) \div 0.188 \times 10^{-3}] \div V1 \times D = 1.06 \times (\Delta A + 0.0046) \times D$

- 4、 $\text{Cpr } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0046) \div 0.188] \div (V1 \div V \times 500) \times D = 2.13 \times (\Delta A + 0.0046) \times D$

V---提取液体积：1mL；

V1---加入粗提液体积：0.005mL；

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。