

## BCA 法蛋白质含量检测试剂盒（分光光度法）

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

### 测定意义：

样品可溶性蛋白质含量常常用于酶活性计算。此外，可溶性蛋白质含量也用于食品等质量分析。

### 测定原理：

碱性条件下，蛋白质中半胱氨酸、胱氨酸、色氨酸、酪氨酸以及肽键，能将  $\text{Cu}^{2+}$  还原成  $\text{Cu}^+$ ；2 分子的 BCA 与  $\text{Cu}^+$  结合，生成紫色络合物，在 540-595nm 有吸收峰，562nm 处吸收峰最强。

### 试剂组成和配制：

试剂 A：液体 50mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂 B：液体 1mL×1 支，4℃ 保存。

标准蛋白：液体 2 mL×1 支，4℃ 保存。

**工作液配制：**临用前请根据拟用工作液体积（样本数×1 mL），将试剂 A 和 B 按照 50: 1 的比例混合，盖紧后充分混匀。

### 样品中可溶性蛋白质提取：

- 1. 液体样品：**澄清无色液体样品可以直接测定。
- 2. 组织样品：**按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液（自备，根据需要选用酶提取缓冲液或者蒸馏水或者生理盐水）冰浴匀浆，8000g，4℃ 离心 10min，取上清，即待测液。
- 3. 细菌、细胞：**按照细胞数量（ $10^4$  个）：提取液体积（mL）为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 8000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

## 测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 562 nm, 蒸馏水调零。
2. 工作液置于 60℃ 水浴预热 30 min。

	空白管	标准管	测定管
蒸馏水 (μL)	20		
标准品 (μL)		20	
待测液 (μL)			20
工作液 (μL)	1000	1000	1000
混匀后置于 60℃ 保温 30min, 于 1mL 比色皿在 562nm 处测定吸光值 A, 分别记为 A 空白管、A 标准管、A 测定。			

**注意: 空白管和标准管只需测定一次。**

## 计算公式:

$$C_{pr} (\text{mg/mL}) = C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$$

$$= 0.5 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$$

$$C_{pr} (\text{mg/g}) = C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W$$

$$= 0.5 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W$$

W: 样本质量, g

## 注意事项:

BCA 法蛋白含量测定试剂盒, 适用于测定蛋白浓度在 20-5000μg/ml 样品。

测定前取 1-2 个样做预实验, 若  $A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} > 1.5$ , 需将样本用提取液稀释后再测定, 以确保测定的准确性。