睿信生物
RUIXIN BIOTECH

总蛋白含量检测试剂盒（BCA 法）说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本上清进行预检测。

3.本试剂盒仅用于科研。

4.当测定管的 OD 值大于 1.3 时，需将样本稀释至 OD 值小于 1.3 后检测，稀释时确保样品液体混匀，计算时乘以相应稀释倍数。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	35 mL×1	4℃避光	棕色瓶保存
试剂二	0.7 mL×1	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、1.5 mL 离心管、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1、血清、血浆、培养液等液体样品：直接检测。

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）（提取液需自备，根据需要选用酶提取缓冲液或者蒸馏水或者生理盐水）进行冰浴匀浆，然后 10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。

3、细菌或细胞样品

按照细菌或细胞数量（10^4个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）（提取液需自备，根据需要选用酶提取缓冲液或者蒸馏水或者生理盐水），冰浴超声波破碎（功率 200W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。

五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 562 nm 处。

2. 工作液置于 60℃水浴预热 30 min（此步骤不可省略）。

3. 在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	空白管
样本（μL）	6	-
蒸馏水/超纯水（μL）	-	6
工作液（μL）	300	300
充分混匀，后置于 60℃水浴锅中保温 30 min，吸 200 μL 于 96 孔板，于 562 nm 处测定吸光值 A。ΔA=A 测定-A 空白。空白管只需做 **2~3** 管。		

六、计算：

标准条件下测定回归方程为 y=0.649x+0.0125，R^2=0.9997；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值。

1、按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算

总蛋白含量（**mg/mL**）=（ΔA-0.0125）÷0.649=1.54×（ΔA-0.0125）

2、按照样本质量计算

总蛋白含量（**mg/g** 鲜重）=（ΔA-0.0125）÷0.649×V 样总÷W=1.54×（ΔA-0.0125）÷W

3、按照细菌或细胞计算

总蛋白含量（**mg/10^{4}cell**）=（ΔA-0.0125）÷0.649÷500=0.00308×（ΔA-0.0125）

V 样总：加入提取液体积，1 mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万

八、产品简介

样品蛋白质含量常常用于酶活性计算。此外，蛋白质含量也用于食品等质量分析。