蛋白质定量试剂盒（BCA 法）

货号: KTD3001　　规格: 500 T/2500 T　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**20-2,000 μg/mL		**灵敏度：**20ug/mL
	适用样本：动植物组织、细胞或细菌、血清（浆）等其他样本		
	保质期：室温保存，保质期 12 个月		

01 背景与原理

BCA（二辛可宁酸）是蛋白定量中广泛使用的检测方法，蛋白质定量检测是生物实验的基础检测项目，可用于细胞、组织等样本中总蛋白水平的测定，为其他生化指标结果提供蛋白水平归一化依据。蛋白浓度的准确测定，是 Western-blot、酶活检测等实验的重要前提。BCA 法相比于传统 Lowry 法，试剂稳定性更好，对去污剂耐受性更强，适用高通量 96 孔板检测。

本试剂盒检测原理是蛋白质在碱性条件下将铜离子（Cu^{2+}）还原为亚铜离子（Cu^{+}），生成的 Cu^{+} 与 BCA 结合形成紫色络合物，该络合物在 562 nm 处有较强吸收峰，吸光度值与样品蛋白质含量成正比，测定其在 562 nm 处的吸光度值即可计算样本中蛋白质的含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	500 T	2500 T	
BCA Reagent A	100 mL	500 mL	室温
BCA Reagent B	2 mL	10 mL	室温
BSA Standard	Powder×3vials	Powder×15vials	室温
PBS（5×）	3 mL	15 mL	室温

***请在实验前检查各组分的量。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 562 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	稀释 PBS
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、制冰机、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 试剂配制完成后的工作液正常为浅蓝色；不同批次间工作液颜色可能存在轻微差异，属于正常现象，不影响检测结果，请放心使用。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。用酶标仪测定 562 nm 的吸光度，或在±10nm 之间的其他波长的吸光度。
- BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响，可以兼容样品中高达 5%的 SDS，5%的 Triton X-100，5%的 Tween20、60、80。但 BCA 法受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保 EDTA 低于 10 mM，无 EGTA，二硫苏糖醇(DTT)低于 1 mM，β-巯基乙醇(β-Mercaptoethanol)低于 0.01%。若样品稀释液、裂解液本身背景较高，建议改用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒（货号：KTD3002）。
- 建议每次测定时都做标准曲线。因为 BCA 法测定时颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应会因温度升高而加快。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
PBS（5×）	PBS（5×）用去离子水稀释成 1×PBS	室温保存 12 个月
BSA Standard	加 1 mL 1×PBS 混匀，浓度为 2 mg/mL	实验过程中，冰上放置；分装保存于-20℃，可保存 12 个月

05-2 标准品配制

使用 1×PBS 将 2 mg/mL 标准品储备液依次稀释至终浓度为 2000ug/mL、1500ug/mL、1000ug/mL、800ug/mL、400ug/mL、200ug/mL、100ug/mL 的标准品工作液，以 1×PBS 作为空白孔。（稀释后的标准品 4 小时内使用）

序号	2 mg/mL 标准品体积（μL）	1×PBS 体积（μL）	标准品浓度（μg/mL）
Std.1	100	0	2000
Std.2	75	25	1500
Std.3	50	50	1000
Std.4	40	60	800
Std.5	20	80	400
Std.6	10	90	200
Std.7	5	95	100
空白	0	100	0

05-3 样本制备

样本溶液：根据实验需求制备样本，用 1×PBS 稀释样本至浓度在 20-2,000 μg/mL 范围内。如果样品不足 20 μL，需加 1×PBS 补足到 20 μL，待测样本加入量可按照经验值进行估计。

05-4 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 562 nm。
2. **Working Reagent 配制**：每孔需要 200 μL Working Reagent，为避免损失，按 204 μL 每单孔体系配制：吸取 200 μL Reagent A 和 4μL Reagent B，混合均匀。Working Reagent 需现配现用。
3. **检测体系配制**：按如下体系在酶标板中进行检测体系配制。为实验准确度，**每次实验建议新建标曲**。

试剂	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）
样本	0	0	20
Std.	0	20	0
1×PBS	20	0	0
Working Reagent	200	200	200

4. **吸光度检测：**混匀后，37℃避光孵育 20-30 min。在 562 nm 处读取吸光度值，分别记为 $A_{空白}$、$A_{标准}$和 $A_{测定}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官[**https://www.abbkine.cn**]**>**进入“**技术中心**”**>**查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$，$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$。

2. 标准曲线绘制

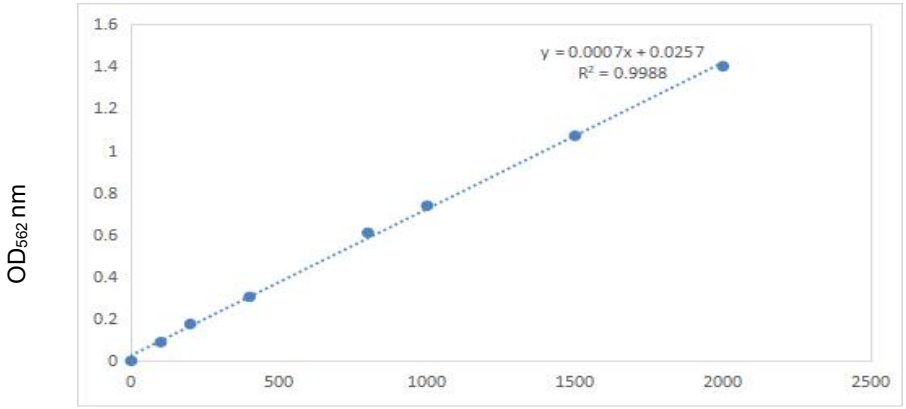
以$\Delta A_{标准}$为 y 轴，标准品浓度为 x 轴，绘制标准曲线。

3. 样本蛋白含量计算

将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 x 值(ug/mL)。

07 结果展示

典型标准曲线：y=0.0007x+0.0257，R^2=0.9988



示例-1：取 20 μL 超声后大肠杆菌的上清，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得样本 OD 值 0.233，$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$=0.233-0.117=0.116，代入标准曲线，计算 x=129。即样本浓度为 129ug/mL，若稀释则乘以稀释倍数 n。

08 FAQ

1. 每次定量实验都需要重新制作标曲吗？是否可以直接使用第一次实验制作的标曲或者直接套用说明书中的标曲数据？

A：考虑环境和操作等各种因素对定量反应过程的影响，为得到更准确的数据结果，建议每次实验都重新制作标曲，以同一实验批次的标曲为准，说明书中的标曲仅供参考。

2. 没有酶标仪可不可以用分光光度计？

A：只要分光光度计可以设定相应的波长就可以使用，需要注意的是建议配合使用微量比色皿，大体积比色皿液面过低仪器检测不到，需要增大单次测定反应体系，进而会减少试剂盒整体使用次数。

3. 酶标仪没有 562 nm 选项设置，可以用附近的 570 nm 吗？

A：可以的，波长范围在±10 nm 以内没有影响。

09 相关产品

货号	产品名称
KTD3004	即用型蛋白质定量试剂盒（BCA 法）
KTD3002	蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）
KTD3010	快速蛋白质定量试剂盒（BCA 法）
KTB2223	CheKine™ 总蛋白（TP）含量检测试剂盒（双缩脲法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

蛋白含量检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTD3001）

体系配置

Working Reagent：204 μL/孔
Reagent A　　200 μL
Reagent B　　4 μL

注：现配现用



标准品配制



样本 20 μL
Working Reagent 200μL

稀释标准品 20μL
Working Reagent 200 μL

数据检测

37℃避光孵育 20-30 min

测定 562 nm 吸光度
结果计算