総タンパク質定量キット[BCA]

Cat No.KY-2010　　取扱説明書

【目的・用途】

BCA 法に基づいたタンパク質定量キットです。BCA 法はアルカリ性条件下でタンパク質が銅イオンを還元する性質を利用した定量法で、界面活性剤の影響が低く、定量範囲が広い(30-1000μg/mL)測定方法です。ジチオスレイトール(DTT)やβ-メルカプトエタノール(β-Me)などの還元剤が含まれる場合には使用できません。

【特徴】

- 様々な界面活性剤との共存が可能
- 希釈やろ過などの試薬調製が不要

【キット内容・保存方法】

内容	容量	保管温度	使用期限
A液	500mL	室温	1 年
B 液	10mL		

【基本情報】

●定量できるタンパク質濃度の範囲　　30～1000μg/mL

●サンプルに含まれていても測定に影響がない化学物質の上限濃度

成分		許容上限
酸・塩基	HCl	100mM
	NaOH	100mM
バッファー	Acetate	200mM
	Ammonium sulfate	20%
	Citrate	<1mM
	Glycine	1M
	HEPES	100μM
	Phosphate	250mM
	Tris	100mM
界面活性剤	Octylglucoside	1%
	SDS	1%
	Triton X-100	1%
	Tween20	1%
	Briji 35	1%
	CHAPS	1%
還元剤	Dithiothreitol	<1mM
	2-Mercaptoethanol	<1%
その他	EDTA	10mM
	Glycerol	10%
	KCl	<10mM
	NaCl	1M
	Urea	3M

【本品以外に準備が必要な器具】

- 562nm の吸光度測定が可能な分光光度計
- 分光光度計に適合した光路長のキュベット
- 1.5mL チューブ
- ボルテックスミキサー
- 正確なピペットマン

【プロトコール】500μL 反応系の場合※

1） スタンダードの調製
測定可能範囲内(0.75～25μg/25μL)で、5 段階程度の 25μL スタンダードタンパク質溶液を作製します。スタンダードは測定サンプルと同じバッファーで希釈するようにしてください。バッファー成分のみ(スタンダード　0μg/25μL)をブランクとします。

2） サンプルの調製
サンプルを、スタンダードと同様に 25μL 準備してください。

3） BCA assay solution の調製
A 液と B 液を 50:1 の割合で混合してください(淡い緑色になります)。1 サンプルにつき 500μL の BCA assay solution が必要です。(※用時調製)

4） 試薬の混合
25μL のスタンダード及びサンプルに対し、500μL の BCA assay solution を加え、ボルテックスしてください。

5） インキュベート
60℃で 15 分間インキュベートします。

6） 冷却
室温で 5～10 分間静置します。

7） 測定
ボルテックスした後、キュベットに溶液を移し、562nm の吸光度を測定します。10 分以内にすべてのサンプルの測定を終了してください。

※反応液量は測定機器等に応じて変えることが可能です。その場合もサンプル溶液と BCA assay solution の比率はプロトコールに従って実施して下さい。

【トラブルシューティング】

トラブル	考えられる要因と対策
呈色しない	**サンプルに銅のキレート剤が含まれている。** サンプルを希釈、またはバッファー置換をしてください。
スタンダードやサンプルの呈色が薄い	**強酸、または強アルカリのバッファーを使用している。** サンプルを希釈、またはバッファー置換をしてください。
呈色が濃すぎる	**サンプルに還元剤が含まれている。** サンプルを希釈してください。

株式会社ファーマフーズ　アプロサイエンスグループ
〒770-0865 徳島県徳島市南末広町４-53　エコービル４階
■Tｅｌ：088-678-6372　■Mail：bio@apro-s.com
■Ｕｒｌ：https://apro-s.com/
本社　〒615-8245 京都府京都市西京区御陵大原1-49