総タンパク質定量キット[還元剤適応 BCA]

Cat No. KY-2030

取扱説明書

【目的・用途】

BCA 法に基づいた総タンパク質定量キットです。通常の BCA 法は還元剤が存在していると正確な定量ができませんが、本キットでは還元剤の影響を抑える試薬を作用させることで、25mM まで DTT など通常のタンパク質実験に使用する濃度の還元剤との共存が可能となりました。

【特徴】

- 還元剤が含まれているサンプルでも測定可能
- 様々な界面活性剤との共存が可能

【キット内容・保存方法】

内容	容量	保管温度	使用期限
前処理試薬（粉末）	400mg	冷蔵	1 年
前処理原液	15mL	室温	1 年
A液	250mL	室温	1 年
B 液	5mL	室温	1 年

【基本情報】

●定量できるタンパク質濃度の範囲　　125～2000μg/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	20mM
	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

【プロトコール】

1） スタンダードの調製

測定可能範囲内(3.13～50μg/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。

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。(※サンプルは 1.5mL チューブの壁面に触れないように、チューブの底に分注してください。)

3） 前処理液の調製

前処理試薬を 20mg 量り取り、500μL の前処理原液に溶解してください。(※用時調製)

4） 還元剤の不活性化

25μL のサンプルに対し、25μL の前処理液を添加してよくピペッティングしてください。その後スピンダウンを行ってください。（※サンプルが壁面に残っていると還元剤が不活性化されず、吸光度に影響します。）

5） インキュベート

37°Cで 20 分間インキュベートします。

6） 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 1mL の BCA assay solution が必要です。(※用時調製)

7） 試薬の混合

50μL のスタンダード及びサンプルに対し、1mL の BCA assay solution を加え、ボルテックスしてください。

8） インキュベート

60°Cで 15 分間インキュベートします。

9） 冷却

室温で 5～10 分間静置します。

１０）測定

ボルテックスした後、キュベットに溶液を移し、562nm で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。

【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	**サンプル中の還元剤濃度が高い。** 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