

商品名: DS540: BCA Protein Assay Kit
DS550: BCA Protein Assay Kit with BSA standard

商品コード: DS540 / DS550 本品は研究用試薬です

キットの内容:

DS540

コンポーネント	容量	保存温度
① BCA Reagent A	500 mL	室温
② BCA Reagent B	10 mL	室温

DS550

コンポーネント	容量	保存温度
① BCA Reagent A	500 mL	室温
② BCA Reagent B	10 mL	室温
③ BSA standard solution (20 mg/mL)	1 mL	4℃

保存条件:

コンポーネント①、②は室温で保管してください。
コンポーネント①を長期保管する場合は 4℃で保管してください。
コンポーネント③は 4℃で保管してください。

使用期限:

12 ヶ月

製品説明:

本製品は BCA アッセイ法を基につくられたタンパク質定量キットです。BCA アッセイは塩基性条件下において進行する Cu^{2+} から Cu^+ への変換反応に基づきます。ピシニコニン酸 (BCA) は Cu^+ と複合体を形成し、波長 562nm に吸収を生じます。この反応によってタンパク質の全量を定量することが可能です。

測定範囲:

本製品の測定範囲は以下に示す通りです。

測定法	各反応温度におけるタンパク質測定範囲		
	室温	37℃	60℃
マイクロチューブ法	40 – 2000 $\mu\text{g/mL}$	20 – 2000 $\mu\text{g/mL}$	5 – 250 $\mu\text{g/mL}$
マイクロプレート法	40 – 2000 $\mu\text{g/mL}$	20 – 2000 $\mu\text{g/mL}$	—

本製品以外に必要な試薬、器具、機器等:

- ・試薬を秤量するピペッター、マイクロピペット等
- ・マイクロチューブ、遠沈管、マイクロプレート等
- ・分光光度計/マイクロプレートリーダー: 測定波長 562 nm

※562 nm $\pm$ 20 nm の範囲で測定可能ですが、吸収極大波長(562 nm)に近い波長での測定を推奨しております。

※タンパク質が吸着し、分析に影響を与える場合がありますので、タンパク質が吸着しにくい容器をご使用ください)

試薬の調製:

① タンパク質スタンダード溶液の調整

タンパク質スタンダード(DS550 付属 BSA standard solution など)を適宜希釈し、測定範囲に応じた検量線作製用標準液を作製します。測定試料と同一のバッファーで希釈することを推奨します。

② BCA Working Solution の調整

試薬 A と試薬 B のボトルをよく転倒混和した後、試薬 A : 試薬 B が 50 : 1 (v/v) の割合になるように混合してください。混合後はなるべく早く使用してください。

測定方法:

マイクロチューブ法

- (1) 50 μ L の各タンパク質スタンダード、測定試料、ブランクをマイクロチューブ等に添加します。
- (2) 1 mL の BCA Working Solution を添加し、よく混合します。
- (3) 選択した温度で 30 min インキュベートします。
- (4) 試料を室温に戻します。
- (5) 波長 562 nm の吸光度を測定します。

マイクロプレート法

- (1) 25 μ L の各タンパク質スタンダード、測定試料、ブランクをマイクロプレートのウェルに添加します。
- (2) 200 μ L の BCA Working Solution を添加し、よく混合します。
- (3) 選択した温度で 30 min インキュベートします。
- (4) 試料を室温に戻します。
- (5) 波長 562 nm の吸光度を測定します。

タンパク質濃度の算出

- (1) タンパク質スタンダードの吸光度からブランクの吸光度を差し引き、タンパク質濃度に対する検量線を作成します。
- (2) 測定試料の吸光度からブランクの吸光度を差し引き、検量線から試料のタンパク質濃度を算出します。

共存物質の影響:

BCA アッセイは共存物質の影響を受けます。以下の互換性表 (Table 1) を参照して共存物質の希釈を適宜行ってください。共存物質とアッセイの成分が相加的に作用する可能性がありますので、本情報は目安としてご利用ください。事前にご使用の試料バッファーとの相性を確認されることを推奨します。

適合表は、1 mg/mL の BSA を測定した際のタンパク質濃度推定誤差が±10%以下である場合を基準に作成しています。

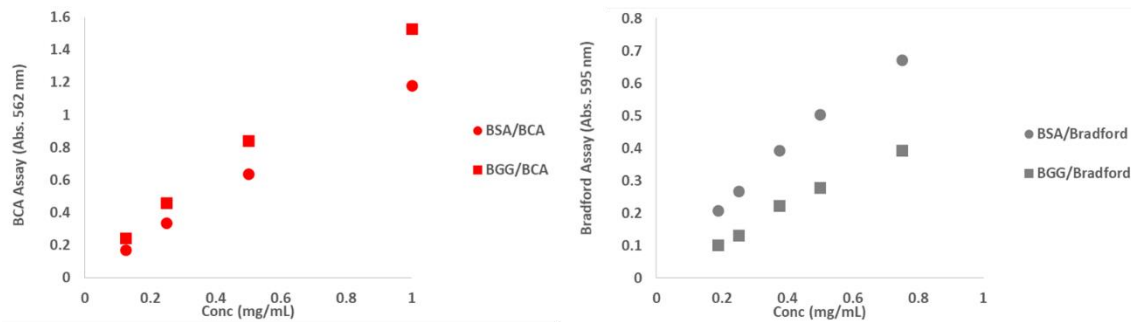
Table 1. 互換性表

物質名	マイクロプレート法	マイクロチューブ法
2-mercaptoethanol	0.0003%	0.01%
Acetone	10%	10%
Acetonitrile	2.5%	10%
Ammonium sulfate	35 mM	150 mM
Borate, pH 8.5	25 mM	25 mM
Brij-35	5%	5%
Calcium chloride (in TBS), pH 7.2	10 mM	10 mM
CHAPS	5%	5%
CHAPSO	5%	5%
DTT	0.25 mM	1 mM
DMF	10%	10%
DMSO	10%	10%
EDTA	5 mM	10 mM
Ethanol	10%	10%
Glucose	10 mM	10 mM
Glycerol (fresh)	10%	10%
Glycine-HCl, pH 2.8	10 mM	100 mM
Guanidine-HCl	2 M	4 M
HEPES, pH 7.5	100 mM	100 mM
Hydrochloric acid (HCl)	100 mM	100 mM
Isopropyl alcohol	10%	10%
Imidazole, pH 7.0	25 mM	50 mM
Magnesium chloride	10 mM	10 mM
MES, pH 6.1	100 mM	100 mM
Methanol	10%	10%
MOPS, pH 7.2	100 mM	100 mM
Na acetate, pH 4.8	200 mM	200 mM

物質名	マイクロプレート法	マイクロチューブ法
Na azide	0.20%	0.20%
Na bicarbonate	100 mM	100 mM
NaCl	1 M	1 M
Na citrate	5 mM	200 mM
Na citrate, pH 4.8	5 mM	200 mM
Na citrate, pH 6.4	5 mM	200 mM
Na deoxycholate	5%	5%
NaOH	100 mM	100 mM
Phosphate Buffer, pH7.0	100 mM	100 mM
Nickel chloride (in TBS), pH 7.2	10 mM	10 mM
NP-40	5%	5%
Octyl beta-glucoside	5%	5%
PBS (-)	5x	5x
PIPES, pH 6.8	100 mM	100 mM
PMSF (100 mM in isopropanol)	1 mM	1 mM
Potassium chloride	2 M	2 M
RIPA buffer	0.5x	Undiluted
ULTRARIPA [®] Buffer (Code: F015)	Undiluted	Undiluted
SDS	2.5%	5%
Sucrose	40%	40%
Tricine, pH 8.0	10 mM	25 mM
Tris-buffered saline (TBS)	0.4x	Undiluted
Tris-HCl, pH 8.0	15 mM	250 mM
Triton X-100	5%	5%
Tween 20	5%	5%
Urea	3 M	3 M
Zinc chloride	10 mM	10 mM

タンパク質の種類による影響:

BCA アッセイは他の測定手法と比較してタンパク質の種類による測定値の変動が比較的少ないという特長があります。以下の図は本製品と Bradford Assay で Bovine Serum Albumin (BSA) と Bovine Gamma Globulin (BGG)を測定した例です。



Reference

- [1] Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., and Klenk, D. C. (1985)
- [2] Chang-Hui Shen, Chapter 8 – Quantification and Analysis of Proteins, Diagnostic Molecular Biology, Academic Press, (2019) 187–214.