

**Dyne BCA Protein Assay Kit**

Cat. No.	용량	농도
GBB-500	500 ml	-

**◆ 제품구성**

	Vol. (ml)
Solution A	500
Solution B	25
BSA Standard Solution (2 mg/ml)	10

**◆ 제품정보**

- Solution A : Bicinchoninic acid 0.1M Sodium hydroxide
- Solution B : 4% Cupric Sulfate
- tube assay시 약 500 test 또는 5000개의 microplate assay가 가능하다.

**◆ 보관조건**

- Solution A, B : 실온
- BSA Standard Solution : 4°C

**◆ 제품설명**

· Dnye BCA Protein Assay Kit는 단백질 정량법 중 BCA를 이용한 발색반응으로 흡광도를 통해 단백질의 농도를 확인할 수 있는 제품이다. BCA method는 단백질이 Cu<sup>2+</sup>를 Cu<sup>1+</sup>로 환원시키면 Cu<sup>+</sup>이온과 bicinchoninic acid와 반응하여 짙은 자색으로 변하는 반응을 562 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질의 농도를 확인하는 방법으로, 다른 방법들에 비해 SDS와 같은 detergent와 Urea, Guanidine hydrochloride와 같은 denaturing agent등에 영향을 적게 받으며 발색 반응 후 signal이 1시간 정도 지속되는 장점이 있다. 본 제품은 test tube(Cuvette) 또는 microplate를 형태로 측정이 가능해 실험실의 상황 및 시료의 상태에 맞추어 사용이 가능하다.

**◆ 프로토콜**

**Preparation of BSA Standard & Working solution**

1. Preparation of BSA Standard

아래 표를 참고하여 BSA standard를 희석하여 농도별 BSA를 만든다.

\*Standard와 sample은 동일한 buffer를 이용하여 희석한다.

No.	Vol. of diluent (μl)	Vol. of standard Sol. (μl)	BSA Conc. (μg/ml)
1	0	200 of stock	2,000
2	50	150 of stock	1,500
3	100	100 of stock	1,000
4	100	100 of No.3	500
5	100	100 of No.4	250
6	100	100 of No.5	125
7	100	100 of No.6	62.5
8	100	0	0

2. Preparation of Working Reagent (WR)

Sol A 와 B를 50:1로 혼합하여 사용한다.

(예) Sol. A 50 ml + Sol. B 1 ml

**For test tube (Sample to WR ratio = 1:20)**

Test tube를 이용한 방식은 sample과 WR의 혼합비율을 1:20으로 사용한다.

1. 각 test tube에 100 μl의 BSA standard와 sample을 넣는다.
2. 각 test tube에 2 ml의 WR을 넣는다.
3. 37°C 또는 60°C에서 30분간 반응시킨다.
  - 37°C detection range : 20~2,000 μg/ml
  - 60°C detection range : 10~250 μg/ml
4. 실온에서 test tube의 온도를 낮춘다.
5. OD 562nm에서 측정한다.

**For Microplate (Sample to WR ratio = 1:8)**

Microplate (96 well)을 이용한 방식은 sample과 WR의 혼합비율을 1:8로 사용한다.

1. 각 Microplate well에 25 μl의 BSA standard와 sample을 넣는다.
2. Standard와 sample을 넣은 well에 200 μl의 WR을 넣는다.
3. 37°C에서 30분간 반응시킨다.
4. 실온에서 plate의 온도를 낮춘다.
5. OD 562nm에서 측정한다.

**◆ 주의사항**

- 특정 물질들이 bicinchoninate 반응에 영향을 줄 수 있다.
  - Strong acids/bases, reducing potential, chelating agents etc.
- 예) ascorbate, catecholamines, creatinine, cysteine, EGTA, Hydrazides, Hydrogen peroxide, Impure sucrose, Impure glycerol, Iron, Lipids, Melibiose, Phenol red, Tryptophan, Tyrosine, Uric acid