

AbiProt

BCA Protein Assay Kit



 Ознакомьтесь с инструкцией по технике безопасности перед использованием.

Cat. # PRT-011-3-25ML

Cat. # PRT-011-3-100ML

Введение

AbiProt BCA Protein Assay Kit представляет собой систему из 2 реагентов на основе бицинхониновой кислоты (БХК) и кристаллогидрата сульфата меди, которая используется для количественного колориметрического определения количества белка в образце.

Данный продукт представлен в виде 2 отдельных реагентов: раствора бицинхониновой кислоты (**AbiProt** BCA Protein Assay Kit Reagent #1), а также кристаллогидрата сульфата меди (**AbiProt** BCA Protein Assay Kit Reagent #2). Рабочий раствор необходимо готовить **непосредственно** перед проведением эксперимента.

Данный метод основан на восстановлении катионов меди Cu^{2+} до катионов Cu^{1+} при взаимодействии с пептидными связями белка, а также остатками различных аминокислот, с последующим образованием окрашенного биуретового комплекса катионов меди с БХК. При хелатировании 2 молекул БХК катионом меди образуется водорастворимый продукт фиолетового цвета, который обладает сильным поглощением при 562 нм. При этом поглощение линейно зависит от концентрации белка в широком диапазоне (0.03 – 5 г/л).

Интенсивность окрашивания комплекса зависит от макромолекулярной структуры белка, количества пептидных связей, а также наличия 4 определённых аминокислот (цистеин, цистин, триптофан и тирозин). Поэтому при проведении колориметрического анализа необходимо использовать контрольный белок максимально близкий по составу к исследуемому белку или использовать белок общепринятого стандарта, а именно **бычий сывороточный альбумин**.

Различные восстанавливающие вещества в растворе могут мешать проведению колориметрического анализа и приводить к ложноположительным результатам.

Колориметрический анализ концентрации белка можно проводить как в пробирках, так и в микропланшетах. Преимуществом использования микропланшетов является меньший расход реагентов и белка.

Протокол использования (общий):

1. *Перед проведением анализа необходимо подготовить стандартные растворы бычьего сывороточного альбумина в различных концентрациях (например, в диапазоне 0.01 – 10 г/л в серии последовательных разведений в 2 раза).*
2. *Далее необходимо подготовить рабочий раствор БХК и сульфата меди. Для этого необходимо смешать БХК (реагент #1) и сульфат меди (реагент #2) в соотношении 50:2 и интенсивно перемешать. Так, например, для приготовления рабочего раствора надо смешать 1000 мкл реагента #1 и 40 мкл реагента #2.*
3. *Для проведения колориметрического анализа необходимо смешать исследуемые белки с рабочим раствором в соотношении 1:10 (например, 10 мкл белка + 100 мкл рабочего раствора) и интенсивно перемешать.*
4. *Для наиболее достоверных результатов необходимо добавлять белки к рабочему раствору одновременно.*
5. *Инкубировать полученную смесь в течение 15 минут, после чего анализировать поглощение образцов на спектрофотометре (при длине волны поглощения 562 нм).*

Протокол использования для 96-луночных микропланшетов (рис. 1):

1. *Перед проведением анализа необходимо подготовить стандартные растворы бычьего сывороточного альбумина в различных концентрациях (например, раствор БСА в диапазоне 0.01 – 10 г/л в серии последовательных разведений в 2 раза).*
2. *Далее необходимо подготовить рабочий раствор БХК и сульфата меди. Для этого необходимо смешать БХК (реагент #1) и сульфат меди (реагент #2) в соотношении 50:2 и интенсивно перемешать. Так, например, для*

приготовления рабочего раствора надо смешать 1000 мкл реагента #1 и 40 мкл реагента #2.

3. В каждую лунку добавить по 10 мкл исследуемого белка или белка-стандарта.
4. Добавить по 100 мкл рабочего раствора БХК на лунку микропланшета.
5. Инкубировать полученную смесь на комнатной температуре в течение 15-30 минут.
6. Измерить поглощение при длине волны 562 нм на микропланшетном спектрофотометре.



Рисунок 1. Схема проведения реакции окрашивания белка с использованием БХК и сульфата меди.

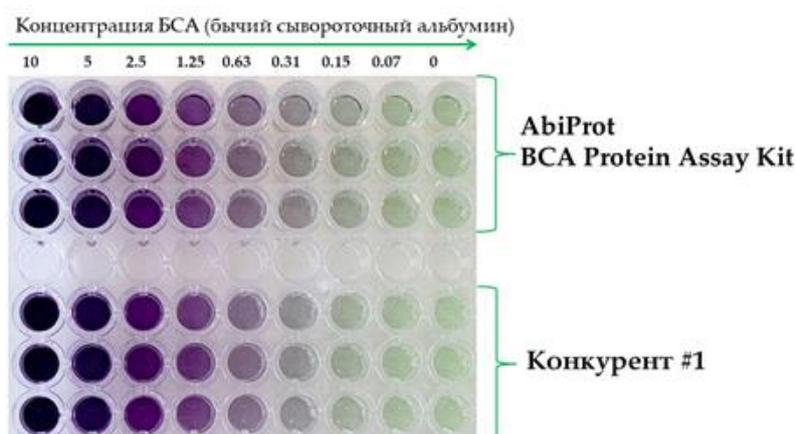


Рисунок 2. Сравнение эффективности AbiProt BCA Protein Assay Kit с конкурентом для определения концентрации БСА.

Условия хранения: при комнатной температуре в защищённом от солнечного света месте.

Срок годности: реагенты стабильны до 12 месяцев при соблюдении условий хранения.

Паспорт безопасности

Внимание: компоненты смеси могут причинять вред при впитывании через кожу и при проглатывании. А также вызывать раздражение слизистых оболочек и дыхательных путей, провоцируя аллергические реакции, симптомы астмы или затруднение дыхания. При появлении раздражения или аллергических реакций необходимо срочно обратиться к специалисту.

Меры предосторожности: избегать вдыхания и прямого попадания на слизистые оболочки, использовать перчатки и защитную одежду.

При попадании на кожу: промыть большим количеством воды с мылом в течение 15 минут. Удалить загрязнение с одежды, необходимо постирать одежду перед повторным использованием.

При вдыхании: вывести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему покой в удобном для дыхания положении.

При попадании в глаза: преимущественно держать веки открытыми, осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз-предварительно их снять.

При проглатывании: промыть рот большим количеством воды.

При появлении респираторных и аллергических симптомов, а также если пострадавший находится в бессознательном состоянии: обратиться за медицинской помощью.