

# EZ-BCA Protein Quantification Kit

Cat. No. DG-BCA500

FOR RESEARCH USE ONLY.

NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.

## ▪ Product Description

EZ-BCA Protein Quantification Kit는 bicinchoninic acid(BCA)를 이용하여 총 단백질의 비색 검출 및 정량 가능한 키트입니다. 알칼리성 용액내 정량 하려는 단백질의 펩타이드 결합에 의해  $\text{Cu}^{2+}$ 가  $\text{Cu}^{1+}$ 로 환원되며(biuret reaction), BCA 2분자가 환원된  $\text{Cu}^{1+}$ 와 배위 결합하며 보라색의 화합물을 형성합니다. 이때 분광 광도계(spectrophotometer)를 이용하여 562 nm에서 측정합니다.

BCA를 이용한 단백질 정량은 단백질의 종류에 따른 차이가 적어 0.02 ~ 2 mg/mL의 넓은 범위에서 사용 가능하며, 계면활성제에 의한 영향을 받지 않습니다.

## ▪ Contents

| Component                       | Volume    | Storage |
|---------------------------------|-----------|---------|
| BCA Reagent A                   | 500 mL    | RT      |
| BCA Reagent B                   | 25 mL     | RT      |
| BCA Standard Solution (2 mg/mL) | 10 X 1 mL | 4°C     |

\* 본 제품은 연구 목적으로만 사용되어야 하며, 인체용 또는 진단을 목적으로 사용되어서는 안됩니다.

## ▪ General Protocol

### 1. Preparation of diluted albumin (BSA) standards.

| Vial No. | Vol. of Diluent ( $\mu\text{L}$ ) | Vol. and Source of BSA ( $\mu\text{L}$ ) | Final BSA Conc. ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|----------|-----------------------------------|--|--------------------------------------|
| 1        | 0                                 | 300 of Stock                             | 2000                                 |
| 2        | 125                               | 375 of Stock                             | 1500                                 |
| 3        | 325                               | 325 of Stock                             | 1000                                 |
| 4        | 175                               | 175 of vial 2 dilution                   | 750                                  |
| 5        | 325                               | 325 of vial 3 dilution                   | 500                                  |
| 6        | 325                               | 325 of vial 5 dilution                   | 250                                  |
| 7        | 325                               | 325 of vial 6 dilution                   | 125                                  |
| 8        | 400                               | 100 of vial 7 dilution                   | 25                                   |
| 9        | 400                               | 0  | 0                                    |

- ① 표를 참고하여 BSA standard를 희석합니다. (희석된 양은 3반복 가능합니다.)
- ② BSA standard와 측정하고자 하는 sample은 동일한 buffer를 이용합니다.

## 2. Preparation of the BCA working reagent (WR)

- ① Working Reagent (WR) = BCA reagent A (50) : BCA reagent B (1)
- ② BSA reagent A와 B를 혼합하면 투명한 녹색의 용액이 생성됩니다. 분석할 샘플 수에 따라 충분한 양을 만들어 사용하십시오.

### 3-1. Test-tube를 이용한 측정 ( Sample : WR = 1 : 20 )

- ① Standard와 측정 시료를 test-tube에 100  $\mu\text{l}$  씩 넣습니다.
- ② 모든 test-tube에 WR 2 mL 씩 넣고 혼합합니다.
- ③ Test-tube를 반응시킵니다.
  - a. 37  $^{\circ}\text{C}$ , 30 min : 측정 범위 = 20 ~ 2000  $\mu\text{g/mL}$
  - b. 실온(RT), 2 hours : 측정 범위 = 20 ~ 2000  $\mu\text{g/mL}$
  - c. 60  $^{\circ}\text{C}$ , 30 min : 측정 범위 = 5 ~ 250  $\mu\text{g/mL}$
- ④ 실온(RT)에서 test-tube의 온도를 식혀 줍니다.
- ⑤ OD 562 nm에서 측정합니다.

### 3-2. Microplate를 이용한 측정 ( Sample : WR = 1 : 8 )

- ① Standard와 측정 시료를 microplate에 well 당 25  $\mu\text{l}$  씩 넣습니다.
- ② 모든 microplate의 well 당 WR 200  $\mu\text{l}$  씩 넣고 혼합합니다.
- ③ Plate를 덮고 37  $^{\circ}\text{C}$ , 30 min간 반응시킵니다.
- ④ 실온(RT)에서 microplate의 온도를 식혀 줍니다.
- ⑤ OD 562 nm에서 측정합니다.

## 4. 측정값 정리

### 4-1. Test-tube 측정 시

- ① D.W로 tube를 채워 측정장비의 영점을 맞춥니다.
- ② 측정 시료 및 standard를 10분 이내에 측정합니다. (OD 562 nm)
- ③ 측정 시료 및 standard의 흡광도 값에서 standard vial No. 9의 흡광도 값을 뺍니다.
- ④ 보정된 standard의 흡광도 값을 이용하여 표준 곡선을 그리고, 표준 곡선에서 측정 시료의 흡광도 값을 이용하여 농도( $\mu\text{g/mL}$ )를 결정합니다.

### 4-2. Microplate 측정 시

- ① OD 562 nm로 측정한 standard와 측정 시료의 흡광도 값에서 standard vial No. 9의 흡광도 값을 뺍니다.
- ② 보정된 standard의 흡광도 값을 이용하여 표준 곡선을 그리고, 표준 곡선에서 측정 시료의 흡광도 값을 이용하여 농도( $\mu\text{g/mL}$ )를 결정합니다.

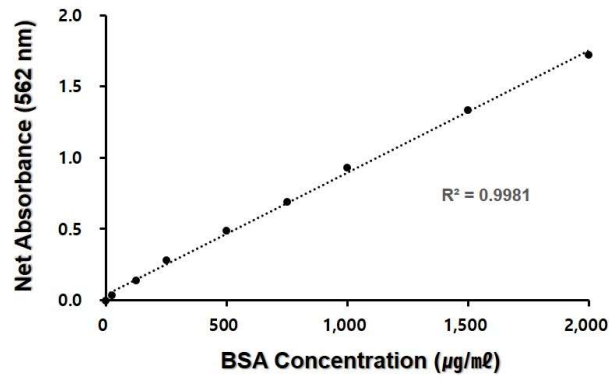


Fig 1. Standard Curve For BSA (0 ~ 2,000 µg/ml)

: microplate를 이용하여 30 분간 37 °C에서 반응 후 측정.

## ▪ Notice

Bicinchoninic acid (BCA)는 환원제, 킬레이트제, 강산 또는 강염기 등에 의해 분석이 방해될 수 있습니다. 예시의 물질들은 미량의 함유로도 분석이 어려울 수 있기 때문에 주의하십시오.

예시) Ascorbic Acid, EGTA, Iron, Impure Sucrose, Catecholamines, Impure Glycerol, Lipid, Tryptophan, Creatinine, Hydrogen Peroxide, Melibiose, Tyrosine, Cysteine, Hydrazides, Phenol Red, Uric Acid

## ■ Related Product

### I. EZ-Western series: Western blot detection kit (ECL solution) and others

| Product   | Catalog No. | size                           |
|---|-------------|--------------------------------|
| <b>EZ-Western</b><br>( Nano~mid picogram )                    | DG-W100     | 100 ml (A: 50 ml + B: 50 ml)   |
|   | DG-W250     | 250 ml (A: 125 ml + B: 125 ml) |
|   | DG-W500     | 500 ml (A: 250 ml + B: 250 ml) |
| <b>EZ-Western Lumi Pico</b><br>( Low picogram )               | DG-WP100    | 100 ml (A: 50 ml + B: 50 ml)   |
|   | DG-WP250    | 250 ml (A: 125 ml + B: 125 ml) |
|   | DG-WP500    | 500 ml (A: 250 ml + B: 250 ml) |
| <b>EZ-Western Lumi Pico Alpha</b><br>( Fast Detection )       | DG-WPAL120  | 120 ml (A: 60 ml + B: 60 ml)   |
|   | DG-WPAL250  | 250 ml (A: 125 ml + B: 125 ml) |
| <b>EZ-Western Lumi La</b><br>( Mid femtogram, Long duration ) | DG-WD100    | 100 ml (A: 50 ml + B: 50 ml)   |
|   | DG-WD200    | 200 ml (A: 100 ml + B: 100 ml) |
| <b>EZ-Western Lumi Femto</b><br>( Low femtogram )             | DG-WF100    | 100 ml (A: 50 ml + B: 50 ml)   |
|   | DG-WF200    | 200 ml (A: 100 ml + B: 100 ml) |
| <b>EZ-Gel Staining Solution</b>                               | DG-GS1000   | 1000 ml (Without De-stain)     |
| <b>EZ-Western Stripping Buffer</b>                            | DG-WSB500   | 500 ml                         |

### II. Protein marker

| Product  | Catalog No. | size            |
|--|-------------|-----------------|
| <b>3-Color Regular Range Protein Marker, 10-245kDa</b>   | DG-PMC245   | 250 $\mu$ l x 2 |
| <b>3-Color Broad Range Protein Marker PLUS, 5-245kDa</b> | DG-PMP245   | 250 $\mu$ l x 2 |

