

WSE-7510

EzBradford Protein Assay Kit

イージーブラッドフォードプロテインアッセイキット

界面活性剤が入ったサンプルも感度よく
総タンパク質量が定量できるブラッドフォード試薬

タンパク質解析はアトーにおまかせ

総タンパク質量を簡単に精度よく定量しよう

還元剤の影響を最小限に抑えて広範囲濃度の
総タンパク質量が定量できる BCA アッセイ試薬

WSE-7520

EzBCA Protein Assay Kit

イージー BCA プロテインアッセイキット



界面活性剤が入ったサンプルも定量できるブラッドフォード法

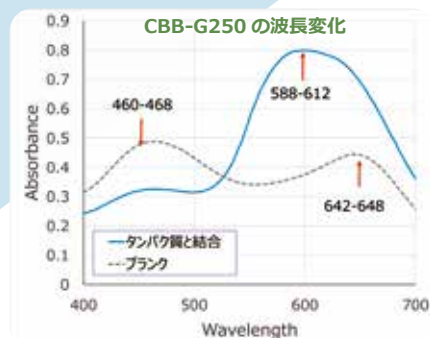
Principle

ブラッドフォード法^{*}は、総タンパク質の濃度測定に最もよく用いられる手法で、簡単かつ迅速に結果を得ることができます。ブラッドフォード試薬にはトリフェニルメタン系の色素であるCoomassie Brilliant Blue (CBB-G250) が含まれており、タンパク質の塩基性アミノ酸 (Arg, Lys, His) や N 末アミノ酸と静電的に相互作用、または芳香族アミノ酸と疎水性相互作用をします。CBB-G250 とタンパク質が非共有結合により結合すると、反応液の色調 (極大吸収波長) が 465 nm (茶褐色) ⇒ 595 nm (青色) に変化します (グラフ参照)。タンパク質と CBB-G250 が結合した状態である、波長 595 nm の吸光度を測定し、標準タンパク質により作成した検量線から、サンプルのタンパク質濃度を換算します。

ブラッドフォード法は簡便な方法ですが、タンパク質の種類や共存する他の化合物によって吸光度が影響を受ける場合があります。特に界面活性剤は、CBB-G250 がミセルに取り込まれるため、タンパク質との結合が阻害され、定量が妨げられることが知られています。

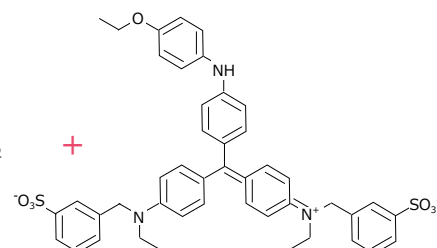
WSE-7510 EzBradford Protein Assay Kit は界面活性剤の影響を最小限に抑えて、総タンパク質量をブラッドフォード法で定量するためのキットです。ブラッドフォード溶液、標準タンパク質 (BSA、BGG) と、界面活性剤の干渉を低減するためのタンパク質希釈溶液が含まれています。定量範囲の目安はスタンダード法で 10 ~ 2,000 µg/mL、低濃度測定法で 1 ~ 50 µg/mL です。

^{*}Bradford M. M., Analytical Biochemistry 72, 248-254 (1976)



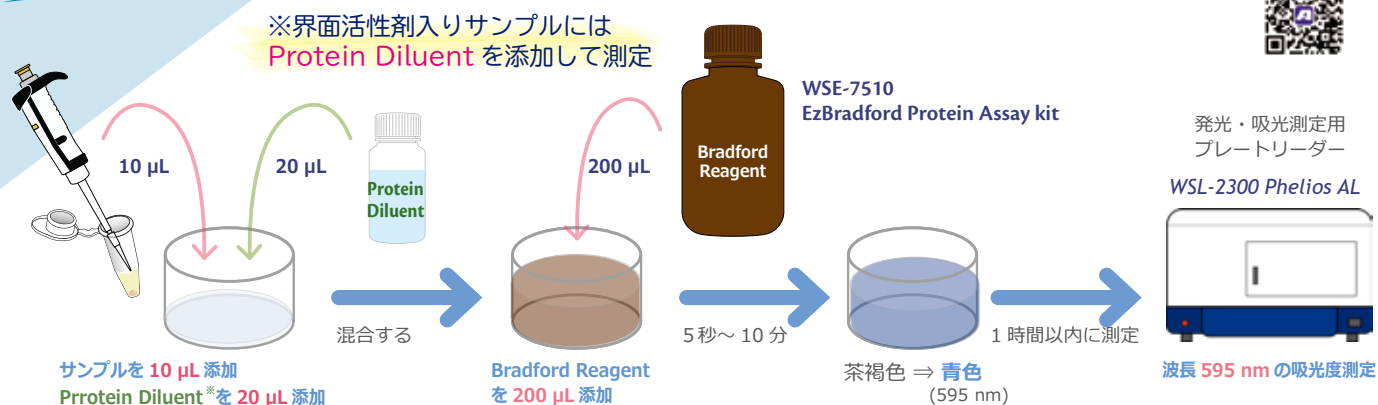
ブラッドフォード反応

Protein -NH₂



Coomassie Brilliant Blue G-250

Protocol



詳しくはWEBで!



発光・吸光測定用
プレートリーダー

WSL-2300 Phelios AL



	スタンダード		低濃度領域		界面活性剤含有 (スタンダード)		界面活性剤含有 (低濃度領域)	
	プレート	キュベット	プレート	キュベット	プレート	キュベット	プレート	キュベット
測定容器	プレート	キュベット	プレート	キュベット	プレート	キュベット	プレート	キュベット
サンプル量	10 µL	25 µL	50 µL	250 µL	10 µL	25 µL	50 µL	250 µL
Protein Diluent	不要				20 µL	50 µL	100 µL	500 µL
Bradford Reagent	200 µL	1 mL	150 µL	750 µL	200 µL	1 mL	150 µL	750 µL
反応温度	室温							
反応時間	5秒-10分 (1時間安定)							
測定波長	595 nm							
検出感度	10-2,000 µg/mL		1-50 µg/mL		10-2,000 µg/mL		5-50 µg/mL	

Product

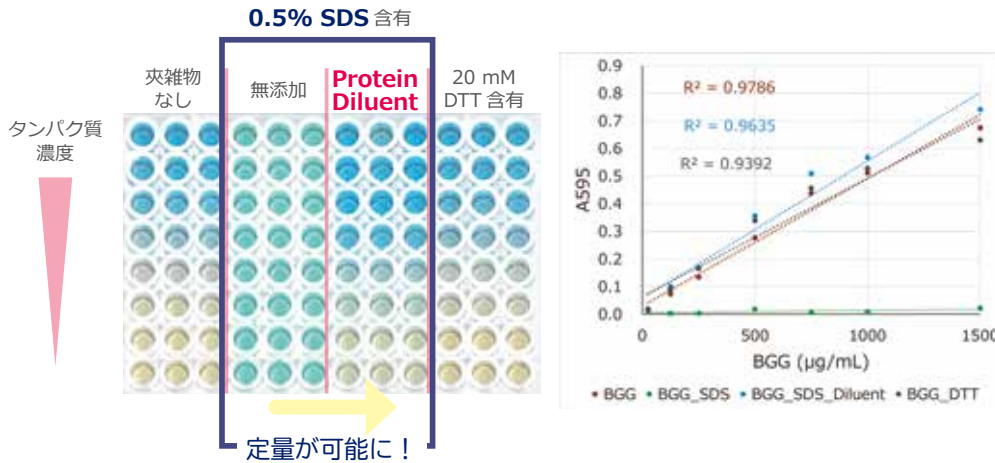
型式・コード 名称	WSE-7510・2332382 EzBradford Protein Assay Kit イージーブラッドフォードプロテインアッセイキット	
構成	① Bradford Reagent (ブラッドフォード溶液) : 500 mL ② Protein Diluent (タンパク質希釈溶液) : 50 mL ③ BSA Standard (2 mg/mL ウシ血清アルブミン) : 10 mL ④ BGG Standard (2 mg/mL ウシγグロブリン) : 10 mL	※約 2,500 ウェル分
保存・輸送	遮光冷蔵 1年間 (未開封時)・常温輸送	
価格	20,800 円	

新製品



Data

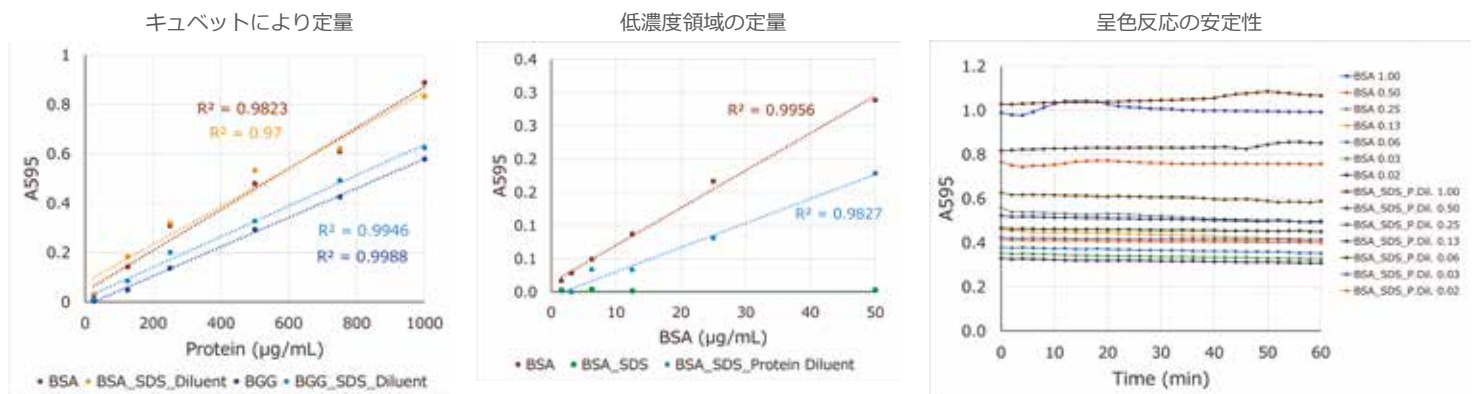
界面活性剤入りでも定量可能



左図は BGG Standard の希釈系列に、終濃度 0.5% SDS (BGG_SDS)、または 20 mM DTT (BGG_DTT) を添加し、EzBradford Protein Assay Kit でタンパク質量を定量した結果を示しています。DTT による阻害は見られませんでした。0.5% SDS を添加した BGG は呈色に影響があり、定量が阻害されました。SDS 含有 BGG に Protein Diluent を添加すると (BSA_SDS_Diluent)、SDS による阻害が低減され、無添加の BGG と同様に直線性良く定量できたことが示されました。このように EzBradford Protein Assay Kit は界面活性剤の阻害を低減して定量できます。

Data

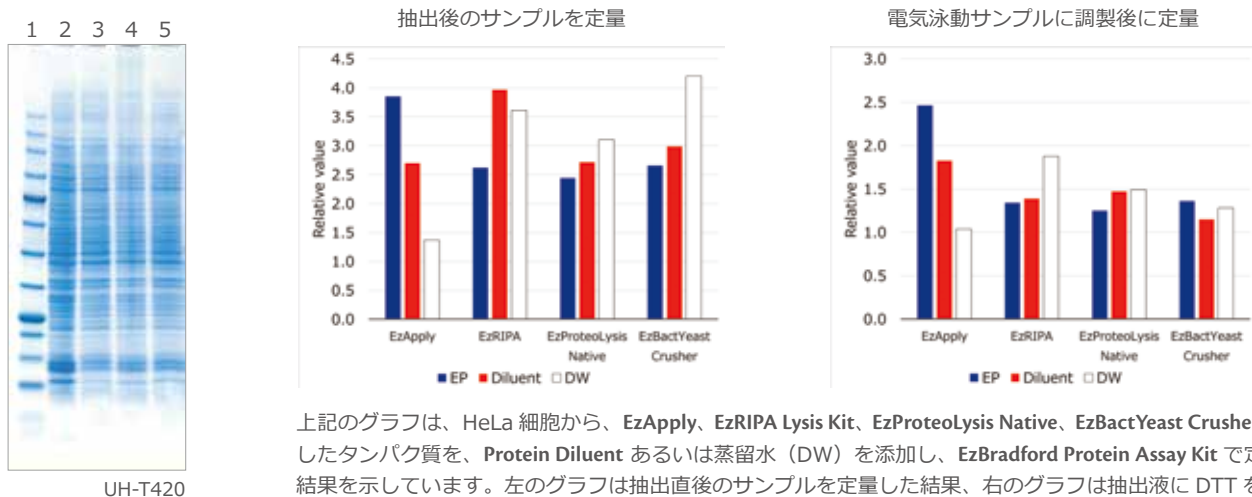
様々な検量線と呈色反応の安定性



BSA または BGG Standard の希釈系列を、キュベットで測定した結果 (左図)、96 ウェルプレートで低濃度領域を測定した結果 (中央) を示しています。キュベットによる測定も、低濃度領域の測定も直線性が良く、Protein Diluent の添加により SDS の阻害効果を最小限に抑えて定量できたことを示しています。また EzBradford Protein Assay Kit による呈色反応の安定性を調べるために 2 分おきに 1 時間測定した結果 (右図)、タンパク質濃度に関わらず測定値は一定であり、反応開始から約 1 時間は安定なことが判ります。

Data

電気泳動パターンとの相関性



上記のグラフは、HeLa 細胞から、EzApply、EzRIPA Lysis Kit、EzProteolysis Native、EzBactYeast Crusher で抽出したタンパク質を、Protein Diluent あるいは蒸留水 (DW) を添加し、EzBradford Protein Assay Kit で定量した結果を示しています。左のグラフは抽出直後のサンプルを定量した結果、右のグラフは抽出液に DTT を添加し、95℃で 5 分間加熱処理して調製した電気泳動サンプルを定量した結果です。また左図はこれらのタンパク質を u-PAGE (UH-T420) で分離した電気泳動パターンです。このゲルイメージを CS アナライザーで解析して、各レーンの輝度積算値を換算し、各定量結果と比較しました。各グラフはタンパク質濃度と積算値の相対値をプロットしています。Protein Diluent を添加して EzBradford Protein Assay により定量した結果は、EzApply はやや低値に、それ以外の抽出法ではやや高値に測定されたものの、電気泳動の解析結果と相関性があることが示されました。

1. EzProtein Ladder
2. EzApply
3. EzRIPA Lysis Buffer
4. EzProteolysis Native
5. EzBactYeast Crusher

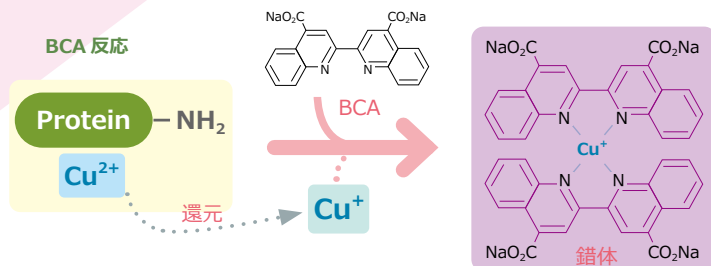
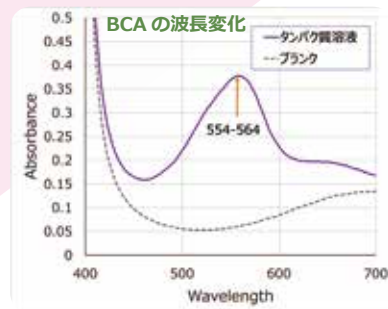
還元剤の影響を低減して定量できる BCA アッセイ法

Principle

BCA (Bicinchoninic Acid、ピシニコニン酸) アッセイ法^{*}はタンパク質 (3つ以上のペプチド) と銅の錯体形成反応を利用した定量方法です。タンパク質を構成する還元作用のあるアミノ酸 (Cys, Tyr, Trp などの酸化されやすいアミノ酸) やペプチド結合の反応により、溶液中の銅 (II) イオン (Cu^{2+}) は銅 (I) イオン (Cu^+) に還元されます。BCA はアルカリ環境下で、銅 (I) イオン (Cu^+) と紫色の錯体を形成します。この錯体の吸収波長 562 nm の吸光度を測定し、標準タンパク質により作成した検量線から、サンプルのタンパク質濃度を換算します。界面活性剤による阻害はありませんが、還元剤、チオール、硫酸アンモニウム、グルコースなどにより反応が阻害されます。

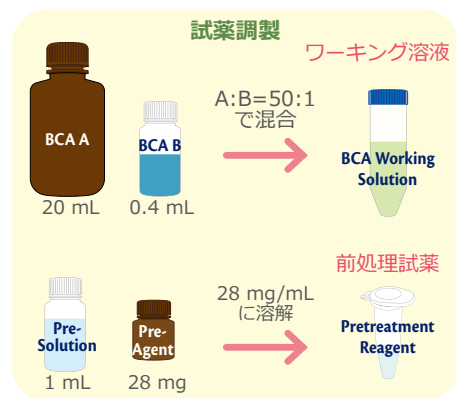
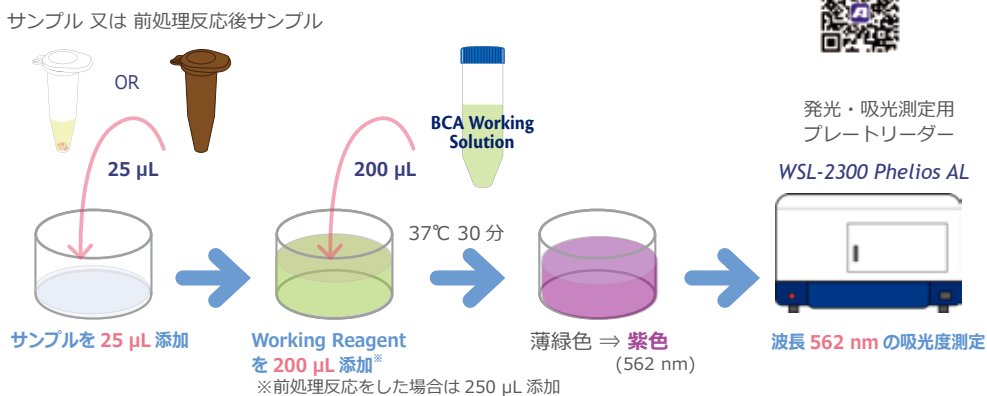
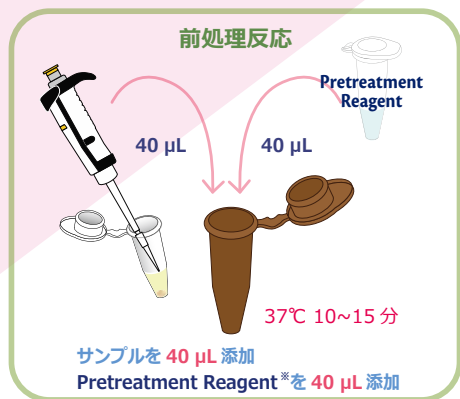
WSE-7520 EzBCA Protein Assay Kit は総タンパク質量を BCA 法で定量するためのキットです。BCA 溶液 (A と B)、標準タンパク質 (BSA、BGG) と、還元剤の干渉を軽減するための前処理剤と前処理溶液が含まれています。定量範囲の目安はスタンダード法で 15 ~ 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、低濃度測定法で 3 ~ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ です。

^{*}Smith P. K., Analytical Biochemistry 150, 76-85 (1985)



Protocol

※還元剤入りサンプルは前処理をしてから測定



測定容器	スタンダード		低濃度領域		還元剤含有	
	プレート	キュベット	プレート	キュベット	プレート	キュベット
サンプル量 (前処理)					40 μL	55 μL
Pretreatment Reagent					40 μL	55 μL
前処理反応温度	不要					
前処理反応時間	37°C					
サンプル量 (測定)	25 μL	50 μL	25 μL	50 μL	25 μL	50 μL
Working Reagent	200 μL	1 mL	200 μL	1 mL	250 μL	1 mL
反応温度	37°C		60°C		37°C	
反応時間	30分		30-60分		30分	
測定波長	562 nm					
検出感度	15-2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$		3-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$		125-2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	

Product

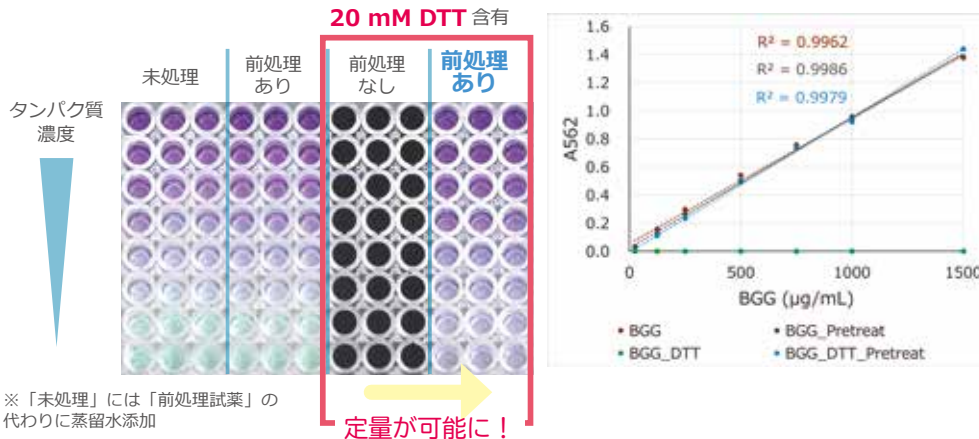
型 式・コード	WSE-7520・2332384	
名 称	EzBCA Protein Assay Kit イージー BCA プロテインアッセイキット	
構 成	① BCA Reagent A (BCA 溶液 A) : 500 mL ② BCA Reagent B (BCA 溶液 B) : 12 mL ③ Pretreatment Solution (前処理溶液) : 50 mL ④ Pretreatment Agent (前処理剤) : 800 mg ⑤ BSA Standard (2 mg/mL ウシ血清アルブミン) : 10 mL ⑥ BGG Standard (2 mg/mL ウシγグロブリン) : 10 mL	※約 2,500 ウェル分
保 存・輸 送	遮光冷蔵 (①②は室温) 1年間 (未開封時)・常温輸送	
価 格	25,800 円	

新製品



Data

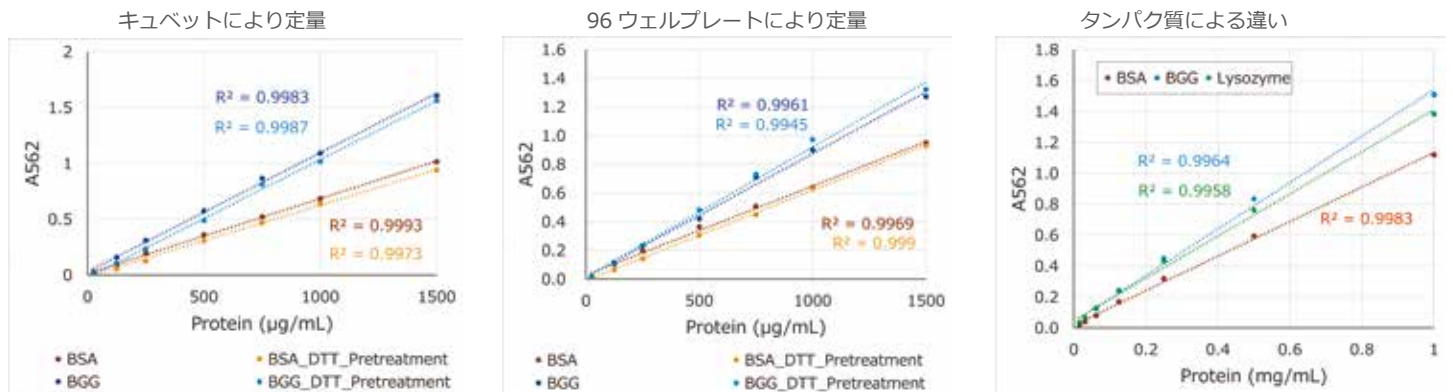
還元剤入りでも直線性よく定量可能



左図は BGG Standard の希釈系列に、終濃度 20 mM DTT (BGG_DTT) を添加し、EzBCA Protein Assay Kit でタンパク質量を定量した結果を示しています。20 mM DTT を添加した BGG は呈色反応が妨げられ、定量できませんでした。DTT 含有 BGG に前処理を施すと (BGG_DTT_Pretreat)、DTT による阻害が低減され、無添加の BGG と同様に直線性良く定量できることが示されました。また無添加の BGG Standard の希釈系列に前処理を施したものとしないもので、呈色にも測定値にも差がなく、前処理反応が定量に影響を与えないことが示されました。このように EzBCA Protein Assay Kit は還元剤の阻害を低減して定量できます。

Data

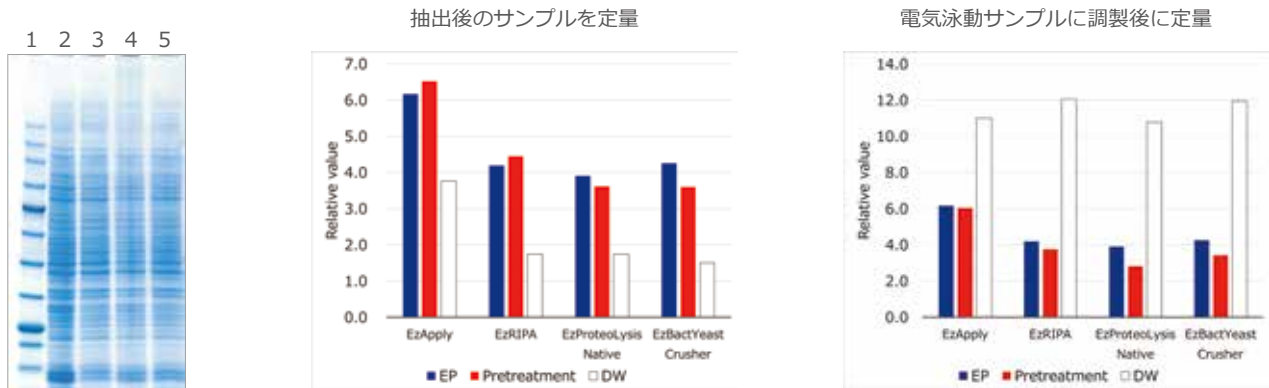
様々な条件で測定した検量線



BSA または BGG Standard の希釈系列を、キュベット(左図)、または 96 ウェルプレートで測定した結果(中央)を示しています。キュベットの測定も、96 ウェルプレートの測定も直線性良く、前処理反応により DTT の阻害効果を最小限に抑えて定量できることを示しています。また右のグラフは BSA Standard と BGG Standard、および Lysozyme の 1/2 希釈系列による検量線を示しています。このように EzBCA Protein Assay Kit は、タンパク質の種類が異なっても、測定値と傾きに顕著な差はなく、いずれも直線性の良い検量線が作成できることがわかります。

Data

電気泳動サンプルも精度よく定量可能



上記のグラフは、HeLa 細胞から、EzApply、EzRIPA Lysis Kit、EzProteolysis Native、EzBactYeast Crusher で抽出したタンパク質を、前処理試薬 (Pretreatment) もしくは蒸留水 (DW) を添加して 37°C で 10 分間反応させた後に、EzBCA Protein Assay Kit で定量した結果を示しています。左のグラフは抽出直後のサンプルを定量した結果、右のグラフは抽出液に DTT を添加し、95°C で 5 分間加熱処理して調製した電気泳動サンプルを定量した結果です。また左図はこれらのタンパク質を u-PAGEL (UH-T420) で分離した電気泳動パターンです。このゲルイメージを CS アナライザーで解析して、各レーンの輝度積算値を換算し、各定量結果と比較しました。各グラフはタンパク質濃度と積算値の相対値をプロットしています。これらの結果から、前処理を施した EzBCA Protein Assay による定量は、電気泳動の解析結果と高い相関性を示すことがわかります。

1. EzProtein Ladder
2. EzApply
3. EzRIPA Lysis Buffer
4. EzProteolysis Native
5. EzBactYeast Crusher

共存物質の許容濃度

下表はタンパク質定量試薬の反応系に影響を与えない、サンプル溶液中に含まれる共存物質の許容濃度をまとめた表です。タンパク質の種類や濃度、試薬の組み合わせや pH などにより、下表に表示された濃度以下でも、反応系に影響を与える可能性がありますのでご注意ください。

	EzBradford Protein Assay Kit		EzBCA Protein Assay Kit	
	無添加	界面活性剤含有 Protein Diluent 添加	前処理なし	還元剤含有 前処理あり
WSE-7420 EzRIPA Lysis Kit	0.5x	0.5x	1 x	1 x
WSE-7424 EzProteoLysis Native	1x	1x	0.125 x	1 x
WSE-7423 EzBactYeast Crucher	0.5x	1x	0.5x	0.5x
AE-1430 EzApply	0.063x	1x	0.008 x	0.2 x
Sodium Deoxycholate	-	10%	20%	20%
SDS	-	0.63%	0.3%	0.3%
Triton X-100	0.3%	2.5%	10%	10%
NP-40	0.63%	2.5%	20%	20%
Tween 20	0.63%	0.63%	2.5%	10%
CHAPS	10%	10%	5%	10%
N-Octyl- β -D-glucopyranoside	1.3%	10%	10%	10%
n-Octyl- β -D-thioglucoiside	2.5%	10%	10%	10%
Dodecyl- β -D-maltoside	1.25%	2.5%	10%	10%
2-Mercaptoethanol	40 mM	40 mM	2.5 mM	20 mM
Dithiothreitol	40 mM	40 mM	1.25 mM	10 mM
TCEP	40 mM	40 mM	1.25 mM	40 mM
Glutathione	-	-	0.63 mM	10 mM
Cysteine	40 mM	40 mM	0.63 mM	5 mM
Tris/pH8.0	1 M	1 M	15 mM	30 mM
Tricine/pH8.0	1 M	1 M	8 mM	15 mM
HEPES/pH8	500 mM	1 M	1 M	1 M
MOPS/pH8	1000 mM	1000 mM	500 mM	500 mM
Sodium Phosphate Buffer	500 mM	1 M	1 M	1 M
PBS	2x	2x	2 x	2 x
TBS	1x	1x	1 x	1 x
Ammonium sulfate	4000 mM	4000 mM	63 mM	63 mM
Urea	6000 mM	3000 mM	6000 mM	6000 mM
Thiourea	2000 mM	2000 mM	0 mM	0 mM
Trichloroacetic acid	750 mM	750 mM	187.5 mM	187.5 mM
N,N-dimethylformamide	20%	20%	20%	20%
Dimethyl sulfoxide	20%	20%	5%	20%
Glycerol	20%	20%	20%	10%
Glucose	20%	20%	1.3%	2.5%
Sucrose	20%	20%	20%	20%
CaCl ₂	100 mM	100 mM	50 mM	50 mM
MgCl ₂	125 mM	250 mM	250 mM	250 mM
NaOH	250 mM	250 mM	250 mM	250 mM
HCl	500mM	500mM	250 mM	125 mM
MeOH	40%	40%	40%	40%
EtOH	40%	40%	40%	40%
EDTA	200 mM	200 mM	12.5 mM	12.5 mM
EGTA	40 mM	40 mM	5 mM	2.5 mM

吸光度・発光測定プレートリーダー

WSL-2300 Phelios AL フェリオス AL



Phelios AL 本体

WSL-2300 Phelios AL は軽量-コンパクトなボディに、波長200~999nmの範囲で吸光度測定、カイネティクス測定、スペクトル測定、エリアスキャン、さらに発光測定も可能なマルチファンクショナルなプレートリーダーです。計測容器は6/12/24/48/96/384ウェルプレートに対応するマルチプレートフォーマットです。定量的に解析する「Quantitative解析モード」を使用すれば、面倒な標準曲線作成も、濃度換算も、測定と同時に自動で行われ、その解析結果はエクセル形式で保存できます。また定性的に解析する「Qualitativeモード」を使えば、カットオフ値の設定により標的分子の陽性・陰性判定ができます。さらにオプションの「Nano Volume plate」を使用すると、2 μLの微量サンプルから、一度に24検体の吸光度/スペクトル測定が可能になります。

オプション品

Nano Volume Plate



Phelios AL ソフトウェア

タンパク質定量用のプリセットプログラムあり

Specifications

型式・名称	WSL-2300 Phelios AL
測定タイプ	吸光度 (ABS) ・発光
測定方式	吸光度測定：フォトダイオード 発光測定：光電子増倍管
測定モード	吸光度測定：①エンドポイント②カイネティクス③スペクトル④エリアスキャン 発光測定：①エンドポイント②カイネティクス 微量吸光度測定*：①エンドポイント③スペクトル
検出感度	吸光度測定：0 ~ 4.0 O.D. 発光測定：10 ⁻¹⁸ mole ATP (ダイナミックレンジ > 8 桁)
測定容器 (マイクロプレート)	6 / 12 / 24 / 48 / 96 / 384 ウェルプレート
測定容器 (Nano Volume Plate*)	3 × 8 (24 検体)
検出器 1：吸光用 / 波長	フォトダイオード / 200 ~ 999 nm
検出器 2：発光用 / 波長	光電子増倍管 / 300 ~ 700 nm
光源・波長分離方式	キセノンランプ・モノクロメータ (1nm ステップ)
攪拌機能	あり：0 ~ 180 秒 (2 段階スピード)
専用アプリケーション	計測条件設定・測定・データ保存・データ解析
対応 OS ・ 外部接続端子	Windows 10 以上 ・ USB × 1
寸法・質量	335mm (W) × 305mm (D) × 232mm (H) ・ 7.0kg (AC アダプター 0.5kg)
電源・消費電力	DC24V ・ 40W
AC アダプター	入力：AC100 ~ 240V 50/60Hz 140VA 出力：DC24V 65W
標準構成品	WSL-2300 Phelios AL 本体 USB ケーブル (A-B タイプ)、AC アダプター + AC ケーブル 発光測定用サポートプレート、USB メモリ (付属ソフトウェア)、取扱説明書

* Nano Volume Plate (微量測定用プレート) はオプション品になります。

Information

WEB 会員限定キャンペーン価格

コード No.	型式・名称	構成	価格	WEB 会員価格
3602301	WSL-2300P-CP Phelios AL	Phelios AL 本体・発光測定用サポートプレート 制御ソフト・Windows PC	¥2,500,000	¥2,000,000
3602302	WSL-2300PN-CP Phelios AL	Phelios AL 本体・発光測定用サポートプレート 制御ソフト・Windows PC・Nano Volume Plate	¥2,800,000	¥2,200,000

関連試薬

コードNo.	型式・名称	数量		価格
2332382	WSE-7510 EzBradford Protein Assay Kit	1組	ブラッドフォード法によるタンパク質定量キット	20,800円
2332384	WSE-7520 EzBCA Protein Assay Kit	1組	BCA法によるタンパク質定量キット	25,800円
2332319	WSE-7424 EzProteoLysis Native	1組	Native PAGE用タンパク質抽出試薬	20,800円
2332339	WSE-7423 EzBactYeastCrusher	1組	大腸菌・酵母 タンパク質抽出試薬	16,800円
2332336	WSE-7420 EzRIPA Lysis kit	1組	全タンパク質抽出用RIPA可溶性バッファー	12,800円
2332337	WSE-7421 EzSubcell Extract	1組	動物細胞（オルガネラ）分離抽出試薬キット	48,800円
2332338	WSE-7422 EzSubcell Fraction	1組	動物細胞（核・ミトコンドリア）分画試薬キット	45,800円
2332380	WSE-7430 EzPBS(-)	1本	細胞調製用リン酸緩衝生理食塩溶液	7,800円
2332625	WSE-7230 EzTBS	1本	ウェスタンブロットング用洗浄溶液	7,800円

関連装置

コードNo.	型式・名称	数量		価格
3602301	WSL-2300P-CP Phelios AL	1式	Phelios AL 本体・発光測定用サポートプレート 制御ソフト・Windows PC	2,000,000 円
3602302	WSL-2300PN-CP Phelios AL	1 式	Phelios AL 本体・発光測定用サポートプレート 制御ソフト・Windows PC・Nano Volume Plate	2,200,000 円
4002610	WSC-2610 MyMiniBLOCK	1台	小型ブロックインキュベータ	59,080円
4002615	WSC-2615 MyMiniBLOCK C&H	1台	小型ブロックインキュベータ 冷却・加熱対応	99,800円
4002620	WSC-2620 PowerBLOCK	1台	汎用ブロックインキュベータ	148,000円
4002630	WSC-2630 PowerBLOCK Shaker	1台	振とう式ブロックインキュベータ	288,000円
4002700	WSC-2700 MyMiniSpin	1式	小型遠心機	48,000円
4002800	WSC-2800 MyMiniVortex	1台	ボルテックスミキサー	39,800円

本誌記載の価格（税抜き）および製品仕様は予告なく変更する場合がありますので、ご了承ください。最新の情報などに関しましては当社ホームページでご確認ください。



WSC-2800



WSC-2700



WSC-2615



WSC-2630



詳しくはWEBで！

ご用命は下記販売店までお願い致します



アトー株式会社

■東京本社 〒111-0041 東京都台東区元浅草3-2-2
 ☎ (03)5827-4861 📠 (03)5827-6647
 ■大阪支店 〒530-0044 大阪市北区東天満2-8-1 若杉センタービル別館 5F
 ☎ (06)6436-1421 📠 (06)6356-3625
 ■メンテナンスサービス 〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6
 ☎ (03)5818-7567 📠 (03)5818-7563

■URL <https://www.atto.co.jp/> お問い合わせ WEB会員登録の上お問い合わせフォームより