

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEINAS BCA.

- La absorbancia depende linealmente de la [prot.] en el rango 0.5-20 μ g/ml.
- El "stock" comercial de BSA tiene una concentración de 2 mg/ml y cada ampolla contiene 1 ml.
- Si diluimos cada ampolla 25 veces, dispondremos de un "standart" con una concentración de **80 μ g/ml**.
- Working reagent: preparar 10 ml en el momento de uso,
 - 5 ml reagent A
 - 4,8 ml reagent B
 - 0,2 ml reagent C

Tomando de este "stock"	μ g de BSA totales	[BSA] en μ g/ml
500 μ g	40 μ g	20
400 μ g	32 μ g	16
300 μ g	24 μ g	12
250 μ g	20 μ g	10
100 μ g	8 μ g	4
50 μ g	4 μ g	2
25 μ g	2 μ g	1
10 μ g	0.8 μ g	0.4
0 μ g	0 μ g	0

	Standar	Sample	H ₂ O	Working reagent
Blanco	---	---	500 μ l	500 μ l
P ₁₀	10 μ l	---	490 μ l	500 μ l
P ₂₅	25 μ l	---	475 μ l	500 μ l
P ₅₀	50 μ l	---	450 μ l	500 μ l
P ₁₀₀	100 μ l	---	400 μ l	500 μ l

P ₂₅₀	250 μ l	---	250 μ l	500 μ l
P ₃₀₀	300 μ l	---	200 μ l	500 μ l
P ₄₀₀	400 μ l	---	100 μ l	500 μ l
P ₅₀₀	500 μ l	---	400 μ l	500 μ l
Sample ₁₀	---	10 μ l	490 μ l	500 μ l
Sample ₂₀	---	20 μ l	480 μ l	500 μ l
Sample ₄₀	---	40 μ l	460 μ l	500 μ l

Vol. Final: 1 ml

Agitar con "vortex" cada tubo.

Incubar 1 h a 60 ° C y después enfriar a t^{em} ambiente.

Leer ABS a 562 nm.