

一般研究用

POLARIC™-ITC

表1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC2011 GC2015	POLARIC™-ITC	1 mg 5 mg	遮光冷凍保存 DMSO溶解後は使い切り	未開封で1年

1. はじめに

■アミン反応性プローブについて

POLARIC™-ITC (isothiocyanate) は、タンパク質等のアミノ基に結合する、縮合剤が不要な蛍光色素POLARICです。抗体等のタンパク質だけでなく、末端アミノ化を施したオリゴヌクレオチドへの標識も可能です。**POLARIC™-ITC** 1 mgに対し、約10 mg から 20 mg のタンパク質へのラベル化が可能です。

2. タンパク質ラベル化プロトコル

■ご用意頂くもの

- ・脱水dimethylsulfoxide (DMSO)
- ・0.1 M sodium bicarbonate バッファー (pH 9.0)
- ・標識物に合った分子サイズのゲルろ過担体・カラム、または透析チューブ

■試薬の調製および蛍光標識方法

- ① タンパク質を 5~10mg/mL となるように、0.1M sodium bicarbonate (pH 9.0) バッファーに溶解させます。
溶液中にBSAなどの安定化剤や、他のタンパク質が含まれている場合は反応が阻害される恐れがあるので、あらかじめ試料溶液を精製してから使用してください。
- ② 反応直前に、**POLARIC™-ITC** を 10 mg/mL となるように DMSO を加え、ピペティングでよく溶解させます。
アミン反応性色素はDMSO中では不安定であるため、溶解後は直ちに次のステップにお進みください。
- ③ ①のタンパク質溶液を攪拌しながら②の **POLARIC™-ITC** 溶液をゆっくりと加え、1時間以上暗所・室温で攪拌します。
オーバーナイトで反応させると標識率が増加します。
- ④ 未反応の **POLARIC™-ITC** を分離する際は、適切なバッファーにてゲルろ過や透析を推奨します。

■ラベル化の確認

色素の極大吸収波長は 500 nm ですが、電気泳動後のUV (350 nm前後) 観察で確認可能です。

3. 保存

色素は窒素封入、乾燥状態で冷凍出荷しております。入荷後は乾燥した冷暗所 (-20 °C以下) で保存してください。
DMSO に溶解後は、1 回使い切りを推奨します。

4. 標識率の算出

タンパク質1分子あたりに結合する **POLARIC™-ITC** の分子数は、次式にて求めることが可能です。

$$\text{標識率} = \frac{C_{\text{POLARIC-ITC}}}{C_{\text{protein}}}$$

$$C_{\text{POLARIC-ITC}} = \frac{A_{500}}{\epsilon_{\text{POLARIC-ITC}}}$$

$$C_{\text{protein}} = \frac{[\text{protein}(\text{mg/mL})]}{\text{M.W. of protein}} = \frac{A_{280} - A_{500} \times 0.25}{\epsilon \text{ of protein}}$$

$C_{\text{POLARIC-ITC}}$: **POLARIC™-ITC** の濃度

C_{protein} : 標識タンパク質の濃度

A_x : x nm における吸光度

$\epsilon_{\text{POLARIC-ITC}}$: **POLARIC™-ITC** のモル吸光係数 ; $\epsilon_{\text{POLARIC-ITC}} = 24,000$