

一般研究用

POLARIC™-MLI

表1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC2031 GC2035	POLARIC™-MLI	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

■チオール反応性プローブについて

POLARIC™-MLI (maleimide) は、タンパク質のチオール基に結合する、縮合剤が不要な蛍光色素POLARICです。タンパク質内のジスルフィド結合を一部還元することで標識部位として用いることが出来ます。**POLARIC™-MLI** 1 mgに対し、約10 mg から 20 mg のタンパク質ヘ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 リン酸バッファー (pH 7.0-7.5、PBS等)
- ・標識物に合った分子サイズのゲルろ過担体及びカラム、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 5~10 mg/mL となるように、0.1 M リン酸 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。またジスルフィド結合を還元する場合、この段階で反応を行ってください。ただし、還元剤は透析等で除去する必要があります。
- ② 反応直前に、**POLARIC™-MLI** 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。
チオール反応性色素は 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™-MLI** 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™-MLI** 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) 観察でも確認可能です。

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℃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™-MLI** の分子数は、次式にて求めることが可能です。

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

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

$$C_{\text{protein}} = \frac{[\text{protein}(\text{mg/mL})]}{\text{M.W. of protein}} = \frac{A_{280} - A_{500} \times 0.29}{\epsilon \text{ of protein}}$$

$C_{\text{POLARIC-MLI}}$: **POLARIC™-MLI** 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

$\epsilon_{\text{POLARIC-MLI}}$: **POLARIC™-MLI** のモル吸光係数 ; $\epsilon_{\text{POLARIC-MLI}} = 34,000$