

一般研究用

STELLA Fluor™ 488-NHS

表1. 製品情報

品番	品名	容量	保存条件	安定性
ST1003-11 ST1003-15	STELLA Fluor™ 488-NHS	1 mg 5 mg	遮光冷凍保存。 溶解後は使い切り。	未開封で1年

1. はじめに

■ STELLA Fluor™ 488-NHS について

STELLA Fluor™ 488-NHS は、五稜化薬 (株) のオリジナル標識用蛍光色素です。標的となるタンパク質と混合するだけでタンパク質のアミノ基と安定な共有結合を形成する、縮合剤が不要な蛍光色素です。

※ 本製品 1 mg で約 $3.5 \sim 10.4 \times 10^{-7}$ mol のタンパク質を標識していただけます。

表2. STELLA Fluor™ 488-NHSの物性 (0.1 M PBS pH 7.4)

λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	ϵ	CF
495	515	71000	0.046

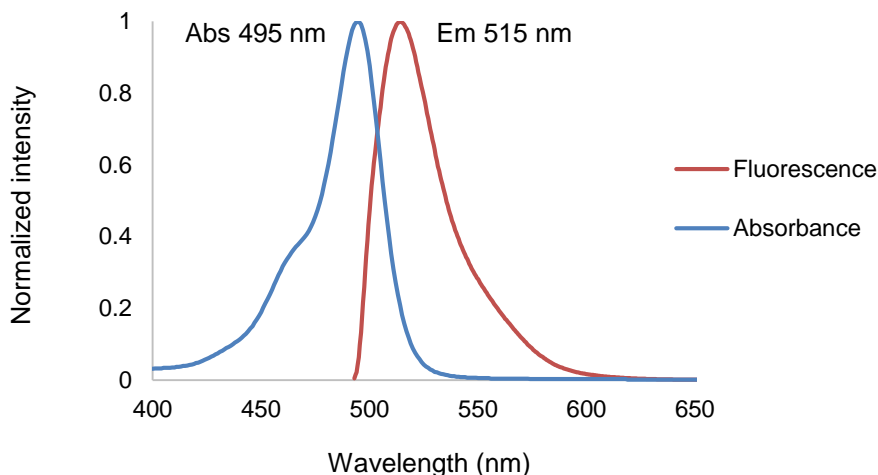


図1. STELLA Fluor™ 488 NHSの吸収および蛍光スペクトル (0.1 M PBS)

2. タンパク質標識プロトコル

■ ご用意頂くもの

- ・ DMSO (脱水)
- ・ 0.1 M Sodium Phosphate Buffer (pH 8.5)
- ・ 推奨: ゲルろ過カラム (担体例: Sephadex G-50, G-25, GE Healthcare社)

■ 試薬の調製および蛍光標識方法

- ① タンパク質を 0.5 mg/mL~となるように、0.1 M Sodium Phosphate Buffer (pH 8.5) 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りますので、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 本製品 1 mg に対して、DMSO (脱水) 208.6 μ L で色素を完全に溶解させ、10 mM 色素溶液を作成します。※ 溶解しにくい場合は 1 mM 以上の色素溶液を作成してください。
- ③ タンパク質に対し、色素モル当量が 2 から 6 となるように色素を加え、常温で 2 時間、暗所で反応させます。20 分に 1 回程度タッピングし攪拌してください。
- ④ 平衡化したゲルろ過カラムあるいはご使用の精製法で未反応の色素を除去します。

■ 標識率の算出

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

$$\text{標識率} = \frac{A_{495} / \epsilon_{\text{STELLA}}}{(A_{280} - A_{495} \times \text{CF}) / \epsilon_{\text{protein}}}$$

$A_{495, 280}$: 標識体の 495, 280 nm における吸光度

CF: Correction Factor (表2参照)

ϵ_{STELLA} : **STELLA Fluor™ 488** のモル吸光係数 (表2参照)

$\epsilon_{\text{protein}}$: IgG の場合、216,000

■ 蛍光観察

最大励起波長は 495 nm、蛍光波長はおおよそ 515 nm をピークに検出されます。フィルタは、GFP-BP, GFP-LP, FITC, B-1A, B-2A (NIKON社)、U-FBW/A, U-FBN/A, U-FYFP, U-FGFP (OLYMPUS社) などを用いてください。

■ 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) に保存してください。

■ 関連試薬

【ST1003-21】STELLA Fluor™ 488-maleimide (1 mg)

【ST1003-31】STELLA Fluor™ 488-free COOH (1 mg)

【ST1003-41】STELLA Fluor™ 488-free NH₂ (1 mg)