

一般研究用

STELLA Fluor™ 700-NHS

表1. 製品情報

品番	品名	容量	保存条件	安定性
ST1010-11 ST1010-15	STELLA Fluor™ 700-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™ 700-NHS について

STELLA Fluor™ 700-NHS は、標識用に最適化した五稜化薬 (株) のオリジナル蛍光色素です。標的となるタンパク質のアミノ基と、混合するだけで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 $2.5 \sim 7.4 \times 10^{-7}$ mol のタンパク質を標識していただけます。

2. タンパク質標識プロトコル

■ ご用意頂くもの

- ・ 0.1 M Sodium Phosphate Buffer (pH 8.5)
- ・ 精製用ゲルろ過カラム (担体例: Sephadex G-50, GE Healthcare社)

■ 試薬の調製および蛍光標識方法

- ① PBSでゲルろ過カラム担体の平衡化を行ってください。
- ② 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。
- ③ 0.1 M Sodium Phosphate Buffer (pH 8.5) 147.5 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~ 色素溶液を作成してください。
- ④ 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。
- ⑤ ゲルろ過カラム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。

$$\text{標識率} = \frac{A_{691} / \epsilon_{\text{STELLA}}}{(A_{280} - A_{691} \times \text{CF}) / \epsilon_{\text{protein}}}$$

$A_{691, 280}$: 標識体の691, 280 nm における吸光度

CF: Correction Factor (表2参照)

ϵ_{STELLA} : STELLA Fluor™ 700-NHSのモル吸光係数 (表2参照)

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

表2. STELLA Fluor™700-NHSの物性

λ_{Abs} (nm)	λ_{Flu} (nm)	ϵ	CF
691	716	9.5×10^4	0.06

■ 蛍光観察

最大励起波長は691 nm、蛍光波長はおよそ716 nmをピークに検出されます。用いるフィルタは、Alexa Fluor® 700, Cy7 (Nikon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

【ST1010-21】 STELLA Fluor™700-maleimide (1 mg)

【ST1010-31】 STELLA Fluor™700-free COOH (1 mg)

【ST1010-41】 STELLA Fluor™700-free NH₂ (1 mg)