COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

IST Fluolid

IST Fluolid-W

Oligonucleotide Amine Labeling Kits

IST Fluolid-W Orange 600 Oligonucleotide Amine Labeling Kit
IST Fluolid-W Yellow 540 Oligonucleotide Amine Labeling Kit
IST Fluolid-W Green 520 Oligonucleotide Amine Labeling Kit

Contents

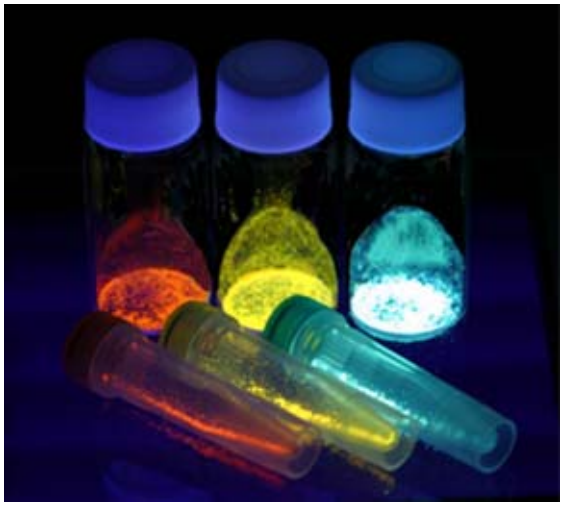
IST Fluolid-W succinimidyl ester in DMSO	60 µl	× 3
0.2 M Sodium bicarbonate buffer (pH8.5)	120 µl	× 3

Application

Labeling of amine-modified oligonucleotides (5 – 10 nmol amino group)

Characteristics

1. **high quantum yield in the solid state**
2. **no photobleach**
3. **high stability for light, heat and pH**
4. **labeling rate is higher than that of traditional dye**



Attention

Product is research use only.
The fluorescene unit of "IST Fluolid" has high stability under various conditions.
To keep the activity of the succinimidyl ester group, please store at 2-8 °C.
Contents are subject to change without notice.

Manufacture

IST
International Science Technology CO., LTD.
Kasuga Lab.

Distributor

COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science
TOYO 2CHOME, KOTO-KU, TOKYO, 135-0016, JAPAN
http://www.cosmobio.co.jp e-mail : export@cosmobio.co.jp
Phone : +81-3-5632-9617 FAX : +81-3-5632-9618

COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

IST Fluolid-W Oligonucleotide Amine Labeling Kits

IST Fluolid-W Orange 600 Oligonucleotide Amine Labeling Kit, cat# ISU-IST001
IST Fluolid-W Yellow 540 Oligonucleotide Amine Labeling Kit, cat# ISU-IST002
IST Fluolid-W Green 520 Oligonucleotide Amine Labeling Kit, cat# ISU-IST003

Contents

IST Fluolid-W succinimidyl ester in DMSO	60 µl × 3
0.1 M sodium borate buffer (pH8.5)	120 µl × 3

Attention

Product is research use only.
The fluorescence unit of "IST Fluolid" has high stability under various conditions.
To keep the activity of the succinimidyl ester group, please store at 2-8 °C.
Contents are subject to change without notice.

Protocol

The kits have been optimized for labeling 5 to 10 nmol 5'-amine modified oligonucleotide (18–25 base).

Slightly shorter or longer oligonucleotides may be labeled by the same procedure. However, adjustments of the protocol may be necessary for greatly shorter or longer oligonucleotides.

It may be usable under the low DMSO concentration. In the case of the precipitations, they typically have no effect on the reaction. However, adjustments of the protocol may be necessary for yield loss.

Take care of yield loss, when the conditions of the protocol are changed. In this instance, please investigate the conditions.

(1) Preparation of Amine-Modified Oligonucletotide Solution

Dissolve the 5-10 nmol of amine-modifined oligonucleotide in 100 µl of 0.1M borate buffer (pH8.5).

(2) Reaction Mixture (Labeling Reaction)

Mix the 50 µl IST Fluolid-W succinimidyl ester/DMSO solution with the amine-modified oligonucletotide solution prepared in Section (1). The reaction mixture is stirred slowly for 1-2 hours at room temperature. In the case of the precipitations, they have no effect on the reaction.

(3) Purification of Labeled Oligonucleotide

The labeled oligonucleotide can be purified from the reaction mixture by preparative gel electrophoresis or reverse-phase HPLC.

One example of the purification is shown below.

Purification by HPLC

Labeled oligonucleotides can be purified by reverse-phase HPLC using a standard analytical C8 or C18 column. Load the labeld oligonucleotides solution onto the column in 0.1M triethylammonium acetate (TEAA) buffer (pH7.0) and a linear 5-95% acetonitrile gradient over 30 minutes.

- Peaks may vary depending on the length of the oligonucleotide and the purity of the sample. We recommend to run a small portion of the sample on the column first, to ascertain the identity of the peaks before running of preparative HPLC.

- To determine the identity of the peaks, monitor the absorbance at both 260 nm and at the absorbance maxima (λ_{max}) for the dye. For instruments with only one detector, two small samples should be run, each monitored at a different wavelength. Unlabeled oligonucleotide will show an absorbance at 260 nm only. Both the free dye and the labeled oligonucletotide will have absorbance at both 260 nm (A_{260}) and at the absorbance maximum of the dye (A_{max}); however, the labeled oligonucleotide will have a higher A_{260}:A_{max} ratio.

Characteristics

Fluorescent Dye	λ_{abs}/ nm *	λ_{em}/ nm *	ε/$M^{-1}cm^{-1}$ +	Molecular Weight
Fluolid-W Orange 600	440	602	15,000	570
Fluolid-W Yellow 540	410	541	12,000	540
Fluolid-W Green 520	395	522	10,000	510

* Absorbance and fluorescence emission maxima.
\+ Extinction coefficient at λ_{abs}.

If there is an unknown point, please contact us in the following.

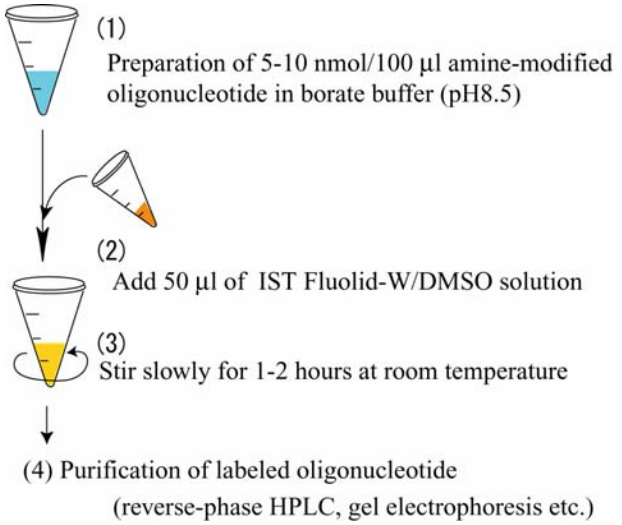


Figure 1. Protocol for Oligonucleotide Amine Labeling with Oligonucleotide Amine Labeling Kits.

Manufacture

International Science Technology CO., LTD.
Kasuga Lab.

Distributor

COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science
TOYO 2CHOME, KOTO-KU, TOKYO, 135-0016, JAPAN
http://www.cosmobio.co.jp e-mail : export@cosmobio.co.jp
Phone : +81-3-5632-9617 FAX : +81-3-5632-9618

コスモ・バイオ株式会社

メーカー略号：ISU

アミノ化オリゴヌクレオチド用標識キット

IST Fluolid-W Orange 600 アミノ化オリゴヌクレオチドラベル化キット：品番 IST001
IST Fluolid-W Yellow540 アミノ化オリゴヌクレオチドラベル化キット：品番 IST002
IST Fluolid-W Green 520 アミノ化オリゴヌクレオチドラベル化キット：品番 IST003

構成内容：

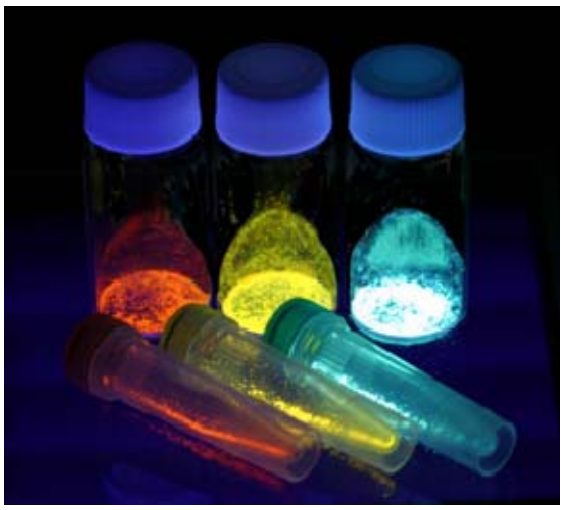
IST Fluolid-W succinimidyl ester DMSO 溶液	60 µl	× 3
0.1 M sodium borate buffer (pH8.5)	120 µl	× 3

用途

アミノ化オリゴヌクレオチドのアミノ基への蛍光標識
(5 – 10 nmol のアミノ基)

本製品の特徴

1. 固体（乾燥）状態で極めて高い蛍光を発する
2. 退光性が無い
3. 蛍光色素は高い熱・光・pH 安定性を有する
4. 高い標識率を示す



注意事項

本製品は研究用試薬です。
色素骨格が分解することはありませんが、活性エステル部位の分解を防ぐために、冷蔵もしくは冷凍下で保存してください。
内容物につきましては、連絡無く変更する場合がございますのでご了承下さい。

株式会社 アイエスティー
研究施設
〒816-8580 福岡県春日市春日公園6－1 九州大学 総合研究棟 614号室
TEL. 092-583-8873 Mail：info@is-t.co.jp

コスモ・バイオ株式会社

IST Fluolid-W アミノ化オリゴヌクレオチド用標識キット

IST Fluolid-W Orange 600 アミノ化オリゴヌクレオチドラベル化キット :品番 IST001
IST Fluolid-W Yellow 540 アミノ化オリゴヌクレオチドラベル化キット :品番 IST002
IST Fluolid-W Green 520 アミノ化オリゴヌクレオチドラベル化キット :品番 IST003

Contents

IST Fluolid-W succinimidyl ester DMSO 溶液	60 µl × 3
0.1 M Sodium borate buffer (pH8.5)	120 µl × 3

Attention

本製品は研究用試薬です。
色素骨格が分解することはありませんが、活性エステル部位の分解を防ぐために、冷蔵もしくは冷凍下で保存してください。
内容物につきましては、連絡無く変更する場合がございますのでご了承下さい。

Protocol

このキットは 5 – 10 nmol の 5'末端アミノ化オリゴヌクレオチド(18 – 25 base)で最適化されています。

若干短いもしくは若干長いものを用いても、同様の条件でラベル化を行うことができます。

より短いもしくはより長いものを用いる場合は、条件を適宜変える必要があります。

DMSO 濃度を下げて反応させることも可能です。この際、沈殿が生じる場合がございます。基本的には沈殿が生じてもラベル化に支障はありませんが、条件によっては収量に影響する場合もございます。この場合条件を適宜変える必要があります。

なお、本キットと異なる条件でご利用の場合には、お客様御自身で条件の検討を行うようお願いいたします。

(1) アミノ化オリゴヌクレオチド溶液の調製

5-10 nmol のアミノ化オリゴヌクレオチドを 0.1 M Sodium borate buffer (pH 8.5) 100 µl で溶解しアミノ化オリゴヌクレオチド溶液を調製します。

(2) 溶液の混合(ラベル化反応)

1)で調製したアミノ化オリゴヌクレオチド溶液に IST Fluolid-W succinimidyl ester DMSO 溶液 50 µl を加え、室温で 1-2 時間ゆっくりと攪拌します(この際沈殿が生じても、ラベル化には支障ありません)。

(3) 標識オリゴヌクレオチドの精製

精製にはゲル電気泳動や逆相 HPLC の利用をお奨めいたします。

逆相 HPLC の場合

標準的な分析用 C8 か C18 カラムを用いて行います。(2)の溶液に 0.1 M triethylammonium acetate (TEAA) buffer (pH7.0)を加えます。0.1M TEAA buffer とアセトニトリルとのリニアなグラジエント条件下(5 – 95%のアセトニトリル)で、この溶液を流し標識オリゴヌクレオチドを分取します。

アミノ化オリゴヌクレオチドの長さや量など様々な条件によって HPLC のピーク時間は変化します。あらかじめ未標識のアミノ化オリゴヌクレオチドと色素溶液を同じ HPLC グラジエント条件で分析することをお奨めします。これにより、標識オリゴヌクレオチドを分取しやすくなります。

ゲルろ過精製の場合

(2)の溶液を 0.1 M TEAA buffer(pH 7.0)で約 1 ml にメスアップした後、0.1 M TEAA buffer で平衡化した NAP-10 カラム(GE healthcare SephadexG-25)を用いて、標識オリゴヌクレオチドを分取します。分取した標識オリゴヌクレオチドは、凍結乾燥さてください。

(注意)

ほぼ定量的に反応が起こりますので、ゲル濾過でも精製が可能です。ただし、条件によっては色素が残る場合がございますので、その際には再度ゲル濾過精製を行うか、逆相 HPLC 精製・ゲル電気泳動によって精製を行ってください。

また、定量的に反応が行かない場合(未標識オリゴヌクレオチドが残る場合)もございますのでその際は、逆相 HPLC 精製・ゲル電気泳動によって精製を行ってください。

0.1 M TEAA buffer を使用すれば、分取したサンプルを凍結乾燥でき、その後適当な buffer で適当な濃度に調製できます。Tris-HCl buffer なども使用できますが、凍結乾燥すると塩が析出するため、その場合はそのまま使用することをお奨めします。

(4) 標識オリゴヌクレオチドの濃度決定

凍結乾燥したサンプルを適当な量の buffer(今後使用する buffer)に溶かし、OD 測定(at 260 nm)により濃度決定を行います。調製したサンプルは室温でも安定ですが、長期使用する場合は、凍結して冷凍庫で保存してください(オリゴヌクレオチド部位の損傷を防ぐためです。標識された色素は退光致しません)。

(3)、(4)の操作は、お客様の操作手順にお任せします(ここでは一例を挙げています)。

ご不明な点がございましたら、下記までご気軽にご相談ください。

Characteristics

Fluorescent Dye	λ_{abs} / nm *	λ_{em} / nm *	ε/$M^{-1}cm^{-1}$ +	Molecular Weight
Fluolid-W Orange 600	440	602	15,000	570
Fluolid-W Yellow 540	410	541	12,000	540
Fluolid-W Green 520	395	522	10,000	510

* Absorbance and fluorescence emission maxima.
\+ Extinction coefficient at λ_{abs}.

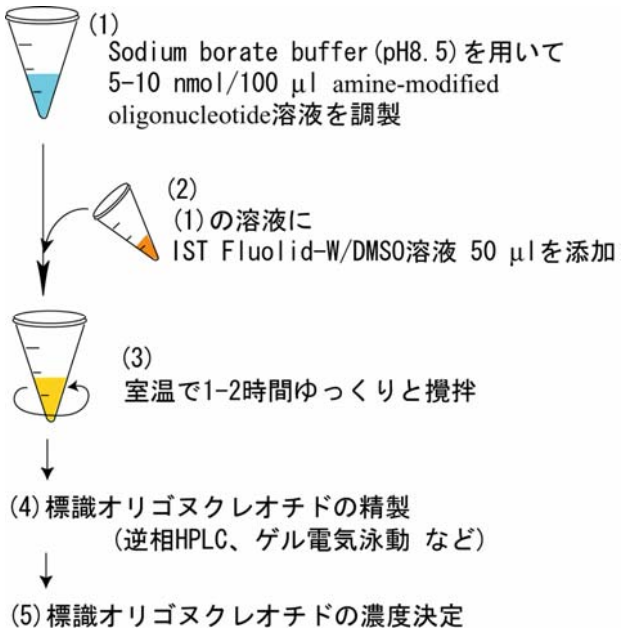


Figure 1. アミノ化オリゴヌクレオチドラベル化キットによる標識手順例.

株式会社 アイエスティー
研究施設
〒816-8580 福岡県春日市春日公園6－1 九州大学 総合研究棟 614号室
TEL. 092-583-8873 E-Mail:info@is-t.co.jp