



IST Fluolid-PM Streptavidin 用標識キット

IST Fluolid-PM	Green 520 Streptavidin	ラベル化キット
IST Fluolid-PM	Yellow 550 Streptavidin	ラベル化キット
IST Fluolid-PM	Orange 600 Streptavidin	ラベル化キット
IST Fluolid-PM	Red 660 Streptavidin	ラベル化キット

Contents

IST Fluolid-PM succinimidyl ester DMSO 溶液	50 μ L $\times$ 3
0.2 M Sodium bicarbonate buffer (pH8.3)	250 μ L $\times$ 3
10mM HEPES, 0.15 M NaCl (pH7.3)	250 μ L $\times$ 3

Attention

本製品は研究用試薬です。

常温で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、製品改良のために、予告無く変更する場合がございますのでご了承下さい。

Protocol

この標識キットは 1.0 mg の Streptavidin で最適化されています。

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がございます。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。

Streptavidin 標識プロトコル

準備するもの

- ・ 0.2M Sodium Bicarbonate buffer pH8.3
- ・ 最終 (タンパク質用) バッファー (10mM HEPES, 0.15M NaCl, pH7.3)
- * 各 buffer はキットに添付していますが、精製等で更に必要な場合はお客様御自身でご用意ください。

(1) Streptavidin 溶液の調製

1.0 mg の Streptavidin (MW:60,000, 16.67 nmol) を最終 buffer 167 μ L、0.2 M Sodium bicarbonate buffer (pH8.3) 167 μ L で溶解します。

(2) 色素溶液の調整

IST Fluolid-PM succinimidyl ester / DMSO を 40 μ L 計り取り、マイクロチューブに移します。これに、最終 buffer 63 μ L、0.2 M Sodium bicarbonate buffer (pH8.3) 63 μ L を加え、軽く撹拌します。

(3) 溶液の混合

1 の溶液、2 の溶液を軽く遠心機にかけます。

1 で調整した Streptavidin の溶液に、2 で調整した色素溶液を加え、撹拌機にのせ、室温で 1~2 時間撹拌を行います。

参考：精製 (例)

NAP5 カラムを用いた精製例です。

() 精製準備

反応終了の 15-30 分前から、精製に使用する NAP5 カラムの準備を行います。

(ア) NAP-5 カラムの蓋、コック (出口の蓋) の順で開き、カラム上に入っている溶媒をすべて落とします。

(イ) 最終 buffer をぎりぎりまで入れ、カラム上の溶媒をすべて落とします。(buffer 交換)

(ウ) この操作を計 3 回行います。

() 精製処理

(エ) 反応混合溶液を軽く遠心機にかけます (壁面についた溶媒を落とすため)。

(オ) NAP カラムに反応混合溶液 (この場合 500 μ L) を入れ、すべて落ちるのを確認します。

(カ) サンプル回収用の容器を設置します。

(キ) 最終 buffer を 1.0ml 入れ、すべて落ちるのを確認します。

* はじめの 10 滴程度 (約 1/3) は buffer のみが落ちてきますので、11 滴目以降を回収することをお勧めします。

* NAP の詳しい操作、のせる溶媒量は NAP 付属の資料を確認してください。

* 必要であれば、AmiconUrtra などを用いて濃縮してください。

* buffer 交換や精製を行う際の buffer は、その都度新しいものをご使用ください。

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

E-Mail: info@is-t.co.jp



参照

NAP-5 カラム

Sample 量	平衡 buffer	溶出量
0.1ml	0.4ml	0.5ml
0.25ml	0.25ml	0.7ml
0.5ml	0ml	1.0ml

NAP-10 カラム

Sample 量	平衡 buffer	溶出量
0.75ml	0.25ml	1.2ml
1ml	0ml	1.5ml

光学特性

(1) 励起波長と蛍光波長 (DMSO 中)

Fluolid-PM	励起波長 (nm)	蛍光波長 (nm)
Green 520	410	522
Yellow 550	424	546
Orange 600	452	601
Red 660	498	661

- 測定装置：励起波長 SHIMADZU UV-2600
蛍光波長 SHIMADZU RF-5300pc

(2) フィルター適応表

	励起フィルター (オリンパス)	蛍光フィルター (オリンパス)	DM (オリンパス)
	励起フィルター (Chroma)	蛍光フィルター (Chroma)	DM (Chroma)
Fluolid-PM	BP400-440	BA495-540	DM410
Green 520	ET405/20x	ET535/30m	T425lpxr
Fluolid-PM	BP400-440	BA515-550	DM455
Yellow 550	ET420/40x	ET565/40m	—
Fluolid-PM	BP420-480	—	DM500
Orange 600	ET440/40x	ET605/30m	T510lpxrxt
Fluolid-PM	BP470-495	—	DM505・DM515
Red 660	ET480/40x	ET660/40m	T510lpxrxt

- 測定装置：励起波長 SHIMADZU UV-2600
蛍光波長 SHIMADZU RF-5300pc
- 各フィルターは参考です。御使用の際は専門メーカー等に御相談下さい。