

はじめに

QCM や SPR 等のバイオセンサーに SAMs を介してタンパク質を固定化する方法としては、末端カルボン酸の SAM を活性化してタンパク質のアミノ基と反応する方法、Ni-NTA を有する SAM に His-Tag タンパク質を固定化する方法、ビオチン-SAM を介してアビジンを固定化した基板表面にビオチン化タンパク質を固定化する方法（ビオチン-アビジン法）などがあります。その中でもビオチン-アビジン法は迅速に且つ強固にタンパク質を固定化できることから汎用されている方法です。

本製品は、金基板上に Streptavidin や NeutrAvidin などのアビジン類を効率的に固定化するためのビオチン SAM 作製用試薬です。本試薬を用いて作成したビオチン SAM は、従来品に比べより多くの Streptavidin を固定化することができます。また、Streptavidin 結合後の表面はタンパク質の非特異的吸着を抑制することができます。

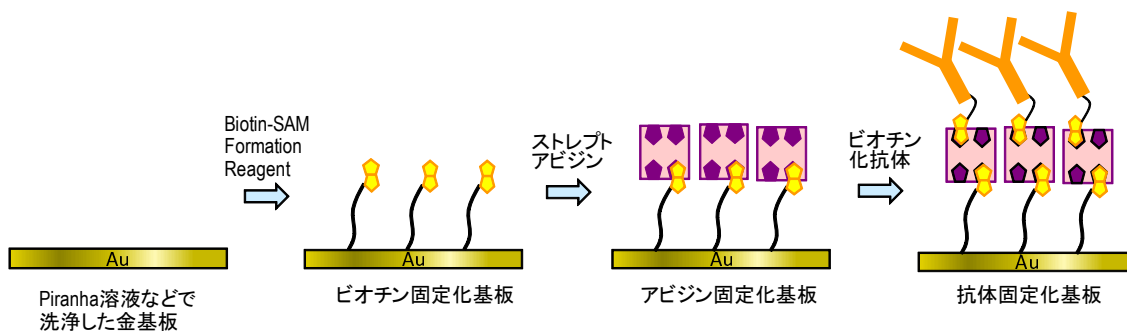


図1 Biotin-SAM Formation Reagent を用いたバイオセンサー作成の模式図

内容

3本

保存条件

0 ~ 5°C で保存してください。

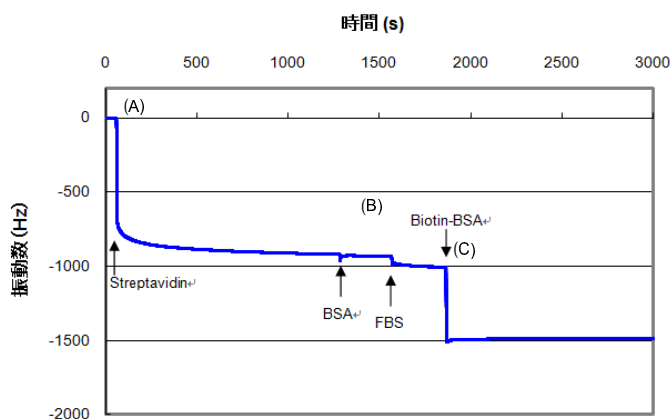
Biotin-SAM 調製法

- 1) 本試薬 1 チューブにエタノール 1 ml を添加してピペティングにより溶解し、1 mmol/l Biotin-SAM 溶液とする a)。さらに、この溶液をエタノールで 10 倍希釈し、操作 2) に使用する。
 - 2) Piranha 溶液 b) 等で洗淨した金基板を、操作 1) で調製した溶液に浸漬し、1 時間室温で静置する。
 - 3) この基板をエタノール、超純水の順で数回洗淨する c)。
- a) 溶解しにくい場合は、超音波照射あるいは 40°C 程度に加熱してください。エタノール溶解後はすぐにご使用ください。
b) 濃硫酸：過酸化水素水 = 3 : 1 の混合溶液です。腐食性が非常に強いので、取り扱いには十分ご注意ください。
c) 作成した Biotin-SAM 基板は、密閉性の高いガラス瓶等に入れ、窒素置換して冷蔵 (0 ~ 5°C) にて保存してください。

実験例

- QCM 基板上への Streptavidin 固定化および性能確認 -

- 1) 本試薬を用いて Biotin-SAM をコートした基板 (QCM 用) をセルにセットし、PBS 450 μ l をセルに添加した。
- 2) QCM を用いて振動数変化を測定し、振動数が安定したことを確認した後、10 mg/ml Streptavidin (PBS) 20 μ l を添加した。
- 3) 振動数変化を測定し、Streptavidin の固定化をモニタした。
- 4) 振動数が安定した後、10 mg/ml BSA (PBS) 8 μ l を添加して測定、さらに 10 mg/ml FBS (PBS) 8 μ l を添加して測定を行った。
- 5) 一旦セルを装置から外し、セル内を PBS で洗淨した。
- 6) 再びセルを装置にセットし、セルに PBS 450 μ l を添加した。
- 7) 振動数変化を測定し、振動数が安定したことを確認した後、12 mg/ml Biotin-BSA (PBS) 8 μ l を添加した。



注)

initium 社 AFFINIXQN μ を用いて測定した。

A) Biotin-SAM 表面への Streptavidin の結合によって振動数が大きく減少した

B) BSA および FBS の非特異的吸着による振動数変化はほとんど観察されなかった

C) Biotin-BSA の Streptavidin 表面への結合によって振動数が大きく減少した

Biotin-SAM Formation Reagent を用いて調製した Streptavidin 表面には、一般的に非特異吸着しやすいタンパク質である BSA や FBS がほとんど吸着しない。操作 5) において測定を一時中断しているため、図に示すデータは、操作 4) までのデータと操作 5) 以降のデータをつなぎ合せている。

図2 Biotin-SAM 形成基板へのタンパク質結合による振動数変化

株式会社 同仁化学研究所

熊本県上益城郡益城町田原 2025-5 〒 861-2202

Tel:096-286-1515 Fax:096-286-1525 URL:www.dojindo.co.jp/

ドージン・イースト (東京) Tel:03-3578-9651 Fax:03-3578-9650