

Carboxylic acid-SAM Formation Reagent Technical Manual

はじめに

Carboxylic acid-SAM Formation Reagentは、金電極、SPR および QCMなどの金表面に、末端官能基としてカルボキシル基を有するSAMs (Self-Assembled Monolayers) を形成するための試薬です。形成したカルボン酸表面には、NHS/WSCを用いたアミンカップリング法によって簡便にタンパク質やペプチド、その他の分子認識サイトを導入することができます。通常、カルボン酸表面は負電荷を持つなどの理由でタンパク質の非特異的吸着が多く、センサとして使用する際の障害となります。しかし、本試薬を用いて形成したSAMは、一般的なカルボン酸SAMに比べ、タンパク質の非特異的吸着が非常に少なく、センサの作製に有用です(図1)。

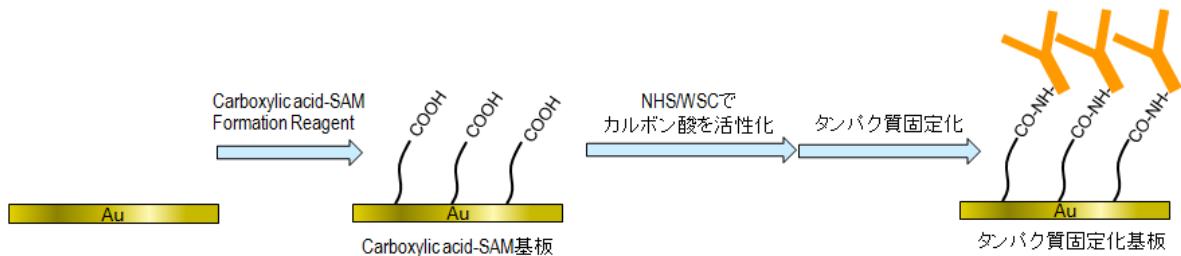


図1 Carboxylic acid-SAM Formation Reagentを用いたバイオセンサ作製の模式図

内容

使用上の注意

保存条件

Carboxylic acid-SAM 調製法

タンパク質固定化法

関連製品

1 μmol × 3 本

内容物は無色から淡黄色液体で微量のため、確認しづらい場合がございます。

輸送中の振動等により、内容物がチューブ壁面やキャップ裏面に付着している場合がありますので、遠心してからご使用ください。

0 ~ 5°Cで保存してください。

- 1) 本試薬1チューブにエタノール1mlを添加してピペットイングにより溶解し、1 mmol/l Carboxylic acid-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)}等で洗浄した金基板を、操作1)で調製した溶液に浸漬し、終夜室温で静置する。
- 3) この基板をエタノール、超純水の順で数回洗浄する^{c)}。

a) 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ため、取り扱いには十分ご注意ください。

c) 作製したCarboxylic acid-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。

本製品にはタンパク質を固定化するための試薬および溶液は含まれておりません。カルボン酸表面を活性化し、タンパク質などを固定化したい場合には、弊社製品のAmine Coupling Kit(製品コード:A515)の利用をお勧めします。なお、下記には一般的なカルボン酸の活性化およびタンパク質固定化法を示します。

- 必要な試薬および溶液 -

注意) 下記試薬および溶液は本製品には含まれておりません。

- N-Hydroxysuccinimide (NHS)
- 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (WSC)
- 弱酸性バッファー (pH4 ~ 6)
* 一般的にMESバッファー等が用いられます。
- 弱アルカリ性バッファー (pH8 ~ 9)
* 一般的に炭酸やリン酸を含むバッファーあるいはグッドバッファー等が用いられます。

- 1) 100 mmol/l NHS溶液および100 mmol/l WSC溶液を弱酸性バッファー(pH4 ~ 6)を用いて調製する。
- 2) 操作1)で調製したNHS溶液およびWSC溶液を等量ずつ混合し、金基板上のカルボン酸表面に滴量添加する。
- 3) 室温で1時間静置した後、基板を弱酸性バッファー(pH4 ~ 6)で数回洗浄する。
- 4) 弱アルカリ性バッファー(pH8 ~ 9)を用いてタンパク質溶液^{a)}を調製し、活性化したカルボン酸表面に滴量添加する。
- 5) 室温で1時間静置した後、PBS等の中性バッファーで洗浄し、必要に応じて適当なブロッキング溶液^{b)}で処理する。

a) 濃度はタンパク質の種類や用途によって異なります。10-1000 μg/ml程度のタンパク質溶液が一般的です。

b) 一般的に1 mol/lエタノールアミン(pH8.5)が用いられます。

関連製品として、以下の製品を販売しております。

品名	製品コード
Amine Coupling Kit	A515
WSC	W001

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