

アミノ化ヒアルロン酸ナトリウム（U2）の5-Carboxylfluorescein N-Succinimidyl Esterによる蛍光標識実施例

1. 留意事項

- 1) 標識剤としては、N-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）エステルをお勧めします。
- 2) 実用的な蛍光標識体を調製するためにはEDHA-Uの約1/10量の標識剤が必要とします。
- 3) 標識剤や使用目的に応じて、適宜、条件を変更してください。
- 4) 本実施例は予告なく変更される場合があります。

2. 試薬・試液

- 1) アミノ化ヒアルロン酸ナトリウム（U2）（以下、EDHA-U2）
- 2) 5-Carboxylfluorescein N-Succinimidyl Ester（以下、CF-NHS）
- 3) 50mmol/Lの四ホウ酸ナトリウム緩衝液（pH8.3）（以下、緩衝液）
- 4) 脱水済みジメチルスルホキシド（以下、DMSO）
- 5) 精製水
- 6) PD-10（Cytiva社）

3. 標識手順（1mgスケール）

3-1. 準備

- 1) EDHA-U2の1バイアルに、3mLの緩衝液を加え、乾燥物を溶解する。EDHA-U液とする。
- 2) 終濃度5mg/mLになるようにCF-NHSをDMSOで溶解する。20μL以上を添加直前に調製する。CF-NHS液とする。

3-2. 反応

- 1) 1mLのEDHA-U液を1.5mL容の遠心チューブに採取後、20μLのCF-NHS液を添加し、直ちに攪拌混合する。
- 2) 37°Cで1時間、放置する。

3-3. PD-10処理、凍結乾燥

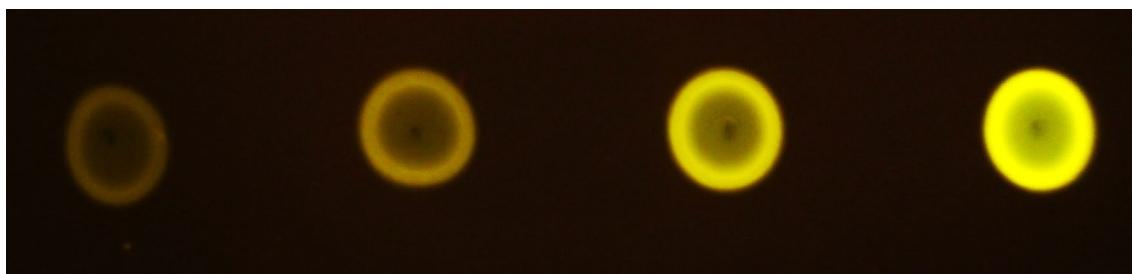
- 1) 反応液をPD-10に負荷し、精製水で溶出することにより、EDHAと反応しなかったCF及び塩類を除去する。
- 2) CFで標識されたEDHA-U画分を回収し、凍結乾燥する。

4. 標識結果

* EDHA-U2、Lot. : 25F968、約 1mg を CF 標識した結果です。

	Result
Appearance	yellow-orange amorphous substance
Yield	92.8%
Degree of Substitution*	3.4%
Detection Limit on a Trans- Illuminator	≤50ng/spot (The image below)
Maximum Wavelength of Excitation	488nm
Maximum Wavelength of Emission	525nm

* 二糖単位に結合した CF 基のモル百分率。1%の場合、100 個の二糖単位（分子量約 40×10^3 ）に 1 個の蛍光基が導入されている。



50ng/spot

100ng/spot

200ng/spot

400ng/spot