

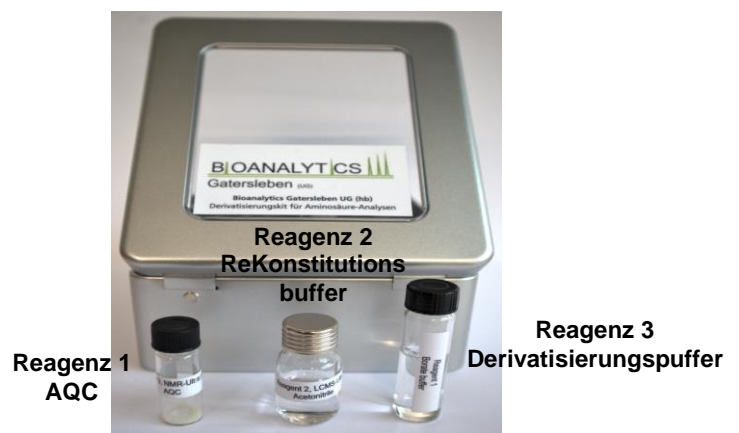
Bioanalytics Gatersleben

Anleitung zum Derivatisierungskit für primäre und sekundäre Aminosäuren

Introduction

Der Derivatisierungskit der Firma Bioanalytics Gatersleben besteht aus drei verschiedenen Reagenzien, von denen die fluoreszierende Substanz das wichtigste ist. Das 6-Aminochinoly-N-hydroxysuccinimidylcarbamat (AQC) ist eine hochfluoreszierende Verbindung, die spontan mit primären und sekundären Aminosäuren sowie mit Peptid- und Proteinhydrolysaten zu hochstabilen, fluoreszierenden Derivaten reagiert. Das überschüssige Reagenz reagiert mit Wasser unter Bildung freier Amine.

Der Kit von Bioanalytics Gatersleben (unten) enthält Reagenz 1 mit dem Fluoreszenz-Farbstoff (AQC) zur Derivatisierung, Reagenz 2 zur Rekonstitution von AQC und Reagenz 3 mit dem entsprechenden Puffer zur Derivatisierung.



Das reine AQC wird in Zusammenarbeit mit einer benachbarten Firma synthetisiert und durch NMR-Analyse zertifiziert, um geringste Verunreinigungen zu gewährleisten.

Der Derivatisierungskit sollte in einer dunklen, trockenen Umgebung bei Raumtemperatur gelagert werden.

Vorbereitung des Fluoreszenz-Farbstoffs (Reagenz1)

1. Verwenden Sie einen Heizschüttler mit 55°C
2. Geben Sie 1 ml Reagenz 2 (Rekonstitutionspuffer) in das Fläschchen 1, Reagenz 1 (AQC) und mischen Sie den Inhalt 15 Sekunden lang sorgfältig
3. Inkubieren Sie das Fläschchen für genau 10 Minuten bei 55°C unter langsamem Schütteln (300 rpm).
4. Nach 10 Minuten abkühlen lassen und den Inhalt zur Derivatisierung von Standards und Proben verwenden. Beachten Sie, dass das gesamte Pulver aufgelöst werden und die Lösung klar aussehen muss.

Derivatisierung der Standards und Proben

1. Bereiten Sie verschiedene Standardmischungen mit den gewünschten Konzentrationen vor.
2. Verwenden Sie saubere Spitzen, um Proben und Standardlösungen in 1,5 ml Eppendorf-Gefäße zu pipettieren.
3. Bereiten Sie ein Endvolumen von 200 µL vor. Geben Sie 140 µl Reagenz 3 (Derivatisierungspuffer) in die Eppendorfgefäße und 20 µL der Standardmischung oder der vorbereiteten Extrakte. Geben Sie 40 µL des rekonstituierten Reagenz (Reagenz 1) in jedes Gefäß.
4. Alles sorgfältig mischen und die Gefäße genau 10 Minuten bei 55°C inkubieren.
5. Abkühlen lassen und 1 bis 10 µL für die U(H)PLC-Analyse verwenden.
6. Derivatisierte Proben können bis zu zwei Wochen bei 4°C und bis zu vier Wochen bei -20°C gelagert werden.