

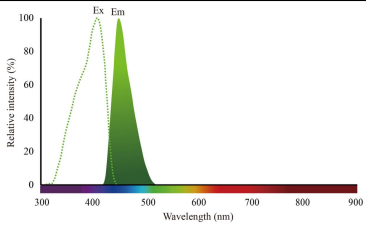
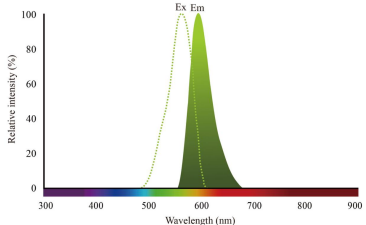
YO Dye SE (YO 琥珀酰亚胺酯)

产品规格

1 mg

产品货号

货号	名称	外观颜色	Abs _{max} /Em (nm)	A ₂₈₀ /A _{max} or C _f (protein)	Extinction coefficient (ε)	Optimal DOL(Ig G)	MW
YS0093	YO425 SE (YO425 琥珀酰亚胺酯)	淡黄色	429/475	0.17	45,000	2-3	526.6
YS0087	YO565 SE (YO565 琥珀酰亚胺酯)	红色	563/594	0.12	120,000	2-3	607.7

名称	光谱图 (溶解于 DMSO 中所测)	效能等同于
YO425 SE (YO425琥珀酰亚胺酯)		ATTO 425 NHS-ester
YO565 SE (YO565琥珀酰亚胺酯)		ATTO 565 NHS-ester

储存条件

-20°C避光保存，有效期见外包装。

产品介绍

Uelandy 提供多种性价比高的氨基反应染料，用于标记蛋白质和其他含胺化合物。YO Dye SE 可以与氨基基团反应生成稳定的酰胺键。

使用方法

1. 实验材料

(1) 蛋白溶液不可含有能与染料反应的胺类化学物质，如氨基酸、Tris、BSA、明胶等。如果蛋白中含有此类化学物质，应用 pH~7.4 的 PBS 缓冲液预先透析处理。低浓度(< 3 mM)叠氮化钠的存在不会产生干扰与标记反应。

(2) 溶液 A: PBS 缓冲液 (pH 7.4)。

(3) 溶液 B: 0.2 M NaHCO₃ 溶液，用 2 M NaOH 将 pH 值调至 9.0。

(4) 溶液 C: 向 20 份溶液 A 中加入 1 份溶液 B，得到 pH 8.3 的标记缓冲液。保存在密封瓶中，该溶液可长期保持稳定。

(5) Sephadex G-25 凝胶过滤柱。

2. 标记方法和步骤

(1) 将 1~5 mg 蛋白溶解在 1 mL 溶液 C 中。

(2) 将 1 mg 染料溶解在 50~200 μL 无水、不含胺的 DMSO 中，充分震荡混匀。

(3) 取适当体积的染料加入蛋白质溶液中，使染料/蛋白的摩尔比在 3:1，由于蛋白质和标记试剂的不同反应性，可能会发生变化。这可能需要优化反应中使用的染料与蛋白质的比例，以获得所需的 DOL。

(4) 室温孵育 1 h。对于 YO565 SE 建议孵育 18 h 以完成标记反应。

(5) 用溶液 A 平衡葡聚糖凝胶 G-25 透析柱。

(6) 将步骤 (4) 反应溶液加入柱子，并用溶液 A 洗脱。首先洗脱出来的着色带是染料-蛋白结合物。

注：为防止洗脱后偶联物发生变性，可添加牛血清白蛋白(BSA)或其他稳定剂。

3. DOL 计算

$$\begin{aligned} \text{DOL} &= c(\text{dye})/c(\text{protein}) \\ &= (A_{\text{max}}/\epsilon_{\text{max}})/(A_{\text{pro}}/\epsilon_{\text{pro}}) \\ &= (A_{\text{max}} \cdot \epsilon_{\text{pro}})/[(A_{280} - A_{\text{max}} \cdot C_f) \cdot \epsilon_{\text{max}}] \end{aligned}$$

a. ϵ_{pro} 为蛋白的摩尔吸光系数；

b. A_{280} 和 A_{max} 分别是指在 280 nm 处的吸光度以及在最大吸收波长处的吸光度；

c. C_f 是校正因子，参考上面表格；

d. ϵ_{max} 为染料的摩尔吸光系数。

注意事项

1. 荧光染料激发与发射波长会受到溶剂的影响，使用不同溶剂，则激发与发射波长可能会发生变化。

2. 标记的蛋白如需储存，可以添加终浓度为 2 mM NaN₃ 作为防腐剂，放置于 4°C 避光保存。如需长期储存，请将溶液分成小份并在 -20°C 下冷冻，避免反复冻融，尽可能保护染料偶联物免受光照。

3. 操作过程注意避光，避免产生气泡。

4. 层析柱装柱时，尽量使柱体均匀，柱面平整，无气泡、裂隙。

5. 上样时注意，当柱顶缓冲液与凝胶平面相切时再加样品，洗脱时，当样品走至与凝胶平面相切时再加洗脱液。

6. 影响标记效率的其他因素还包括：温度、反应时间、pH、荧光染料与蛋白的量等，需注意控制。

7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套。