

YF® Dye Succinimidyl Ester (SE)
(YF®琥珀酰亚胺酯)

产品介绍

YF® SE (or NHS ester)是我司生产的具有氨基反应活性的一类荧光染料。该类染料的 SE 基团可以与氨基基团反应生产稳定的酰胺键。相比于市面上其他同类染料，YF®是稳定性更强、水溶性更好、荧光强度更优的新一代荧光染料。

我司还提供小批量抗体标记试剂盒 Super-n-stain® Antibody Labeling Kits (S6011)，可在 30 min 内标记 5-100 µg 抗体，而无需纯化步骤，简单方便。

应用范围

蛋白标记

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 t(ε)	Optimal DOL (lgG)	M W
YS0 023	YF®350 SE (YF®350琥珀酰亚胺酯)	棕色	349/448	0.14	18,000	4-6	69 3.8
YS0 033	YF®405S SE (YF®405S琥珀酰亚胺酯)	类白色	399/421	0.7	33,000	5-10	10 30.3
YS0 030	YF®488(5) SE (YF®488(5)琥珀酰亚胺酯)	橙色	490/513	0.1	76,000	7-9	83 3.9
YS0 031	YF®620 SE (YF®620琥珀酰亚胺酯)	蓝色	617/639	0.45	115,000	5-6	93 7
YS0 032	YF®488(5)-1 SE (YF®488(5)-1琥珀酰亚胺酯)	橙色	490/513	0.1	76,000	7-9	10 81.2
YS0 018	YF®633 SE (YF®633琥珀酰亚胺酯)	蓝色	630/650	0.48	100,000	4-7	91 9
YS0 019	YF®488(6)-2 SE (YF®488(6)-2琥珀酰亚胺酯)	橙色	491/512	0.1	76,000	7-9	10 81.2
YS0 020	YF®488(6)-X SE (YF®488(6)-X琥珀酰亚胺酯)	橙色	491/512	0.1	76,000	7-9	94 7.1
YS0 029	YF®532 SE (YF®532琥珀酰亚胺酯)	红色	523/545	0.09	81,000	4-7	82 5.0

货号	名称	外观颜色	Abs _{max} /Em(nm)	A ₂₈₀ /A _{max} Or C _f (protein)	Extinction coefficient t(ε)	Optimal DOL (lgG)	M W
YS0 036	YF®555 SE (YF®555琥珀酰亚胺酯)	红色	550/561	0.08	150,000	3-6	11 78.5
YS0 022	YF®568 SE (YF®568琥珀酰亚胺酯)	红色	573/595	0.46	88,000	5-6	89 3.0
YS0 026	YF 594-P ₄ SE (YF 594-P ₄ 琥珀酰亚胺酯)	紫红色	585/609	0.56	92,000	4-7	10 67
YS0 027	YF®594 SE (YF®594琥珀酰亚胺酯)	紫红色	585/609	0.56	92,000	4-7	92 1.0
YS0 024	YF®640 SE (YF®640琥珀酰亚胺酯)	蓝色	641/658	0.37	105,000	4-7	11 46.4
YS0 064	YF®640-4 SE (YF®640-4琥珀酰亚胺酯)	蓝色	641/658	0.37	105,000	4-7	13 93.7
YS0 065	YF®640-5 SE (YF®640-5琥珀酰亚胺酯)	蓝色	641/658	0.37	105,000	4-7	15 69.9
YS0 035	YF®647A SE (YF®647A琥珀酰亚胺酯)	蓝色	648/664	0.03	240,000	3-6	12 59.7
YS0 025	YF®660 SE (YF®660琥珀酰亚胺酯)	蓝色	661/679	0.51	100,000	4-7	11 01.4
YS0 021	YF®680 SE (YF®680琥珀酰亚胺酯)	深蓝色	679/700	0.32	140,000	5-6	11 25.4
YS0 056	YF®750 SE (YF®750琥珀酰亚胺酯)	深绿色	747/770	0.03	250,000	2-5	12 85.7

产品规格

1 mg

储存条件

-20℃干燥避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

注意事项

1. 标记的蛋白如需长期储存,推荐加入 5-10 mg/mL BSA 和 0.05-0.1% ProClin™ 300，以防止蛋白变性和微生物滋生。放置于 4℃避光保存。若加入终浓度为 50%的甘油，可放 -20℃稳定保存一年以上。
2. 操作过程注意避光，搅拌速度应适当以避免产生气泡。
3. 层析柱装柱时，尽量使柱体均匀，柱面平整，无气泡、裂隙。
4. 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。
5. 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。

6. 本产品仅限于科研,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套。

自备材料

1. 试剂

- (1) IgG: 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IgG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。叠氮类化合物的存在不会影响标记反应。
- (2) 无水DMSO
- (3) NaHCO₃
- (4) 葡聚糖凝胶 G-25 透析柱
- (5) PBS 缓冲液 (pH 7.4)
- (6) ProClin™ 300
- (7) BSA

操作步骤

1. 准备抗体

用 0.1 M 的 NaHCO₃ 溶液 (pH 8.3) 稀释抗体,使抗体终浓度为 2.5 mg/mL。如果产品预先用磷酸盐缓冲液稀释,如 PBS 缓冲液(不含胺基类化合物),那么可以直接在该缓冲液中加入约 1/10 体积 1 M 的 NaHCO₃ 母液,使 NaHCO₃ 终浓度为 0.1 M。

注: 抗体浓度为 2.5 mg/mL 时,预期标记效率约为 35%;低于该浓度会导致效率下降,高于 5 mg/mL 则有望提升效率。实际标记效率受缓冲液组分及蛋白纯度影响。如果蛋白初始浓度过低,建议采用超滤法进行浓缩。

2. 准备染料储存液

室温预热一管 1 μmole 的 YF® SE,在管中加入 0.1 mL 的无水 DMSO,充分涡旋溶解染料,配制浓度为 10 mM 的染料储存液。如果使用更微量的蛋白进行标记反应,那么染料需要稀释至更低浓度。

- 注: a. 无水 DMSO 配制的剩余染料储存液在 -20°C 下可稳定保存至少 1 个月。
b. 染料也可以用去离子水配制,但由于其在水中会缓慢水解,水配储液必须现配现用。

3. 标记反应步骤

- (1) 搅拌或涡旋混匀蛋白溶液,逐步滴加 15-25 μL 的染料储存液 (10 mM),使染料/蛋白的摩尔比在 9:1 至 15:1 的范围内。YF® SE 标记 IgG 抗体的 DOL (结合于每个蛋白分子上的染料数量) 范围请参考上表。
- (2) 在室温下搅拌反应 1 h,微量标记时也可在摇床上振荡孵育 1 h。

注: 在进行结合反应的同时,进行步骤 4(1),平衡葡聚糖凝胶 G-25 透析柱。

4. 从反应液中分离标记蛋白

- (1) 用 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 平衡葡聚糖凝胶 G-25 透析柱 (10 mm × 300 mm)。
- (2) 将步骤 3(2)中的标记反应溶液加入透析柱,并用 1 × PBS 缓冲液洗脱。首先洗脱出来的着色带是染料-蛋白结合物。

- 注: a. 对于小规模标记反应,为避免过度稀释产物,推荐使用超滤装置去除结合物中游离染料。
b. 反应结束后通常无需特殊处理,因剩余染料会自行水解。如有必要立即终止反应,可以加入 50 μL 1 M 赖氨酸终止反应。

5. 确定 DOL

(1) 蛋白浓度的确定

抗体浓度可通过以下公式计算:

$$C(\text{mg/mL}) = \frac{[A_{280} - (A_{\text{max}} \times C_f)]}{1.4} \times \text{稀释因子};$$

- 1) C 是指实验收集的抗体浓度;
- 2) 稀释因子是指在光度测量时的稀释倍数;
- 3) A₂₈₀ 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;
- 4) C_f 是校正因子, YF® SE 染料的 C_f 值请参考上面表格;

注: 过柱洗脱的蛋白溶液直接用于吸光度检测可能浓度过大,因此需要稀释到大约 0.1 mg/mL。

稀释倍数 (即稀释因子) 需要从起初抗体数量 (比如 5 mg) 以及蛋白液洗脱的总体积进行预估。

(2) DOL 的估算

DOL 通过下式计算:

$$\text{DOL} = (A_{\text{max}} \times M_{\text{wt}} \times \text{稀释因子}) / (\epsilon \times C)$$

- 1) A_{max}, 稀释因子, C 值在 3(1)中已经明确;
- 2) M_{wt} 是指 IgG 的分子量 (150,000);
- 3) ε 是 YF® SE 的摩尔吸光系数, 参考第一页表格;
- 4) 标记 YF® SE 的 IgG 抗体最适 DOL 值, 请参考第一页表格, DOL 值会波动, 但也能得到很好的实验效果。