

LS405 SE (LS405 琥珀酰亚胺酯)

产品介绍

LS405 SE (LS405 琥珀酰亚胺酯) 是一类具有氨基反应活性的荧光染料。该染料的 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，LS 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。效能等同于 CF®405M Dye。

应用范围

氨基反应活性染料

产品货号

LS0034

储运条件

-20°C干燥避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

稳定性强：荧光亮度高且抗淬灭性好；

批间差小：公司自研产品，批间差稳定。

产品组分

组分	LS0034
LS405 SE (LS405 琥珀酰亚胺酯)	1 mg

产品参数

外观：可溶于 DMSO 或 DMF 的淡黄色固体

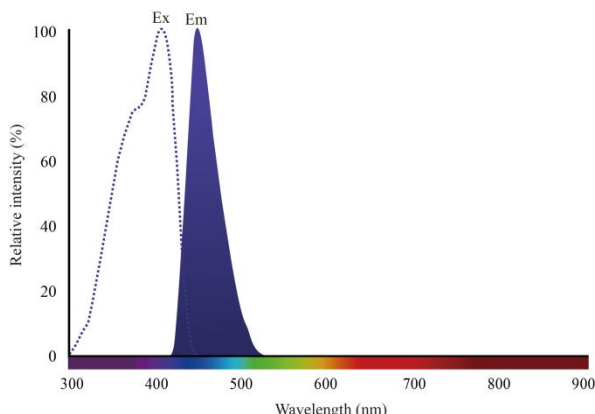
分子量：701.1

Ex/Em：407/448 nm

C_r(protein)：0.13

Extinction coefficient(ε)：41,000 cm⁻¹M⁻¹

光谱图



注：LS405 SE (LS405 琥珀酰亚胺酯) 溶解于水中所测图谱。

注意事项

- 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。
- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- SE 易被水解，在水溶液中会很快变质，请在使用过程中避免接触水。在标记细胞的过程中和水接触是在许可的范围内的。

- 标记的蛋白如需长期储存，推荐加入 5-10 mg/mL BSA 和 0.01-0.03% ProClin™ 300，以防止蛋白变性和微生物滋生。放置于 4°C 避光保存。若加入终浓度为 50% 的甘油，可放 -20°C 稳定保存一年以上。
- 操作过程注意避光，搅拌速度应适当以避免产生气泡。
- 层析柱装柱时，尽量使柱体均匀，柱面平整，无气泡、裂隙。
- 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。
- 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。
- 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方法 (以标记 IgG 抗体为例)

1. 实验材料

- IgG：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。
- 无水 DMSO
- NaHCO₃
- 葡聚糖凝胶 G-25 透析柱
- PBS 缓冲液 (pH~7.4)
- ProClin™ 300
- BSA

2. 标记方法和步骤

(1) 准备标记抗体

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 1M 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

取一管 LS405 SE 染料平衡至室温，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：1) 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。

2) 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

- 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。
- 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

- 用 PBS 缓冲液 (pH~7.4) 平衡葡聚糖凝胶 G-25 透析柱 (10 mm×300 mm)。
- 将步骤 (3) 2) 反应溶液加入柱子，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。

3. 确定 DOL

(1) 蛋白浓度的确定

抗体浓度可通过以下公式计算：

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

- 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) A_{280} 和 A_{max} 分别是指在 280 nm 处的吸光度以及在吸收波长处的吸光度；
- 4) C_f 是校正因子 0.13；

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 LS SE 的摩尔吸光系数，参考第一页表格；
- 4) 标记 LS SE 的 IgG 抗体最适 DOL 值在 4-6 之间，DOL 值会波动，但也能得到很好的实验效果。

相关联产品

产品货号	产品名称
LH0084	LS494 free acid（羧酸）
LH0085	LS510 free acid（羧酸）
LS0014	LS 405M free acid
LS0034	LS405 SE（LS405 琥珀酰亚胺酯）
LA0040	LS405 Azide
S601105	Super-n-stain®LS405 Antibody Labeling Kit (LS405 抗体标记试剂盒)