

FT™ Dye Succinimidyl Ester (SE) (FT™ 琥珀酰亚胺酯)

1 产品介绍

产品简介：

FT™染料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, FT™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。

产品特点：

- 稳定性强： 荧光亮度高且抗淬灭性好；
- 批间差小： 批间差控制的好；
- 选择灵活： 提供多种颜色染料， 选择灵活方便。

2 产品货号

货号	名称	外观颜色	Absmax/ Em(nm)	A280/Amax or Cf (protein)	Extinction coefficient t(ε)	Optimal DOL (IgG)	MW
MS1134	FT™350 SE (FT™350 琥珀酰 亚胺酯)	棕色	349/448	0.14	18,000	4-6	693.8
MS1144	FT™405S SE (FT™405S 琥珀 酰亚胺酯)	类白色	399/421	0.7	33,000	5-10	1030.3
MS1141	FT™488(5) SE (FT™488(5) 琥珀酰亚胺酯)	橙色	490/513	0.1	76,000	7-9	833.9
MS1142	FT™620 SE(FT™620 琥珀 酰亚胺酯)	蓝色	617/639	0.45	115,000	5-6	937
MS1143	FT™488(5)-1 SE (FT™488(5)-1 琥珀酰亚胺 酯)	橙色	490/513	0.1	76,000	7-9	1081.2
MS1128	FT™633 SE (FT™633 琥珀 酰亚胺酯)	蓝色	630/650	0.48	100,000	4-7	919
MS1129	FT™488(6)-2SE(FT™488(6)-2 琥珀酰 亚胺酯)	橙色	491/512	0.1	76,000	7-9	1081.2
MS1130	FT™488(6)-X SE (FT™48 8(6)-X 琥珀酰亚胺酯)	橙色	491/512	0.1	76,000	7-9	947.1
MS1140	FT™532 SE(FT™532 琥珀 酰亚胺酯)	红色	523/545	0.09	81,000	4-7	825.0

货号	名称	外观颜色	Absmax/ Em(nm)	A280/Amax or Cf (protein)	Extinction coefficient t(ε)	Optimal DOL (IgG)	MW
MS1147	FTTM555 SE (FTTM555 褐珀酰亚胺酯)	红色	550/561	0.08	150,000	3-6	1178.5
MS1362	FTTM568 SE (FTTM568 褐珀酰亚胺酯)	红色	573/595	0.46	88,000	5-6	893.0
MS1365	FTTM594 SE (FTTM594 褐珀酰亚胺酯)	紫红色	585/609	0.56	92,000	4-7	921.0
MS1135	FTTM640 SE (FTTM640 褐珀酰亚胺酯)	蓝色	641/658	0.37	105,000	4-7	1146.4
MS1166	FTTM640-4 SE (FTTM640-4 褐珀酰亚胺酯)	蓝色	641/658	0.37	105,000	4-7	1393.7
MS1167	FTTM640-5 SE (FTTM640-5 褐珀酰亚胺酯)	蓝色	641/658	0.37	105,000	4-7	1569.9
MS1146	FTTM647A SE (FTTM647A 褐珀酰亚胺酯)	蓝色	648/664	0.03	240,000	3-6	1259.7
MS1136	FTTM660 SE (FTTM660 褐珀酰亚胺酯)	蓝色	661/679	0.51	100,000	4-7	1101.4
MS1132	FTTM680 SE (FTTM680 褐珀酰亚胺酯)	深蓝色	679/700	0.32	140,000	5-6	1125.4
MS1162	FTTM750 SE (FTTM750 褐珀酰亚胺酯)	深绿色	747/770	0.03	250,000	2-5	1285.7

3 规格或纯度

1 mg

4 储存与运输

储存条件: -20 °C 避光保存

运输条件: 冰袋运输

5 使用方法 (以标记 IgG 抗体为例)

1. 实验材料

(1) 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。

(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) NaN₃
- (7) 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（不含氨基类化合物），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：蛋白浓度为 2.5 mg/mL 时，标记效率大概为 35%，蛋白浓度低于 2.5 mg/mL 也可用于标记，但标记效率会降低。当蛋白浓度高于 5 mg/mL 时，标记效率可能更高。由于缓冲液和蛋白纯度存在差异性，因而更精确的标记效率由实操条件决定。如果蛋白浓度过低，可以通过超滤法 进行浓缩。

(2) 准备染料储存液

室温预热一管 1 μmole 的 FTTM 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. 剩余的染料储存液应于-20°C低温存放，以备后续使用。如果使用无水 DMSO 配制染料 储存液，那么染料至少可以保存一个月。

b. 染料也可以用去离子水配制，但是由于染料在水中会缓慢水解，所以水配制的储液最好现配 现用。

(3) 标记反应步骤

a. 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。FTTM 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。

b. 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 2(4)，平衡葡聚糖凝胶 G-25 透析柱。

(4) 从反应液中分离标记蛋白

a. 用 PBS 缓冲液 (pH~7.4) 平衡葡聚糖凝胶 G-25 透析柱 (10 mm × 300 mm)。

b. 将步骤 3(b)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. 对于小规模的标记反应，为了避免过度稀释产物，可以使用超滤装置去除结合物中的自由 染料。

b. 当结合反应完成后，如不及时分离染料-蛋白结合物，可以加入 50 μL 1M 赖氨酸终止反应。多数情况下，不需要此操作，因为剩余的未反应的染料在反应最后已经被充分水解。

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：

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

- a. C 是指实验收集的抗体浓度;
- b. 稀释因子是指在光度测量时的稀释倍数;
- c. A₂₈₀ 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;
- d. Cf 是校正因子, FTTM SE 染料的 Cf 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来进行预估。

(2) DOL 的估算 DOL 通过下式计算:

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

- a. A_{max}, 稀释因子, C 值在 3(1)中已经明确;
- b. Mwt 是指 IgG 的分子量(150,000);
- c. ϵ 是 FTTM SE 的摩尔吸光系数, 参考第一页表格;
- d. 标记 FTTM 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。

6 注意事项

- 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% NaN₃, 以防止蛋白变性和微生物滋生。放置于 4°C 避光保存。若加入了终浓度为 50% 的甘油, 可放 -20°C 保存。可稳定保存一年以上。
- 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, 不得用于食品或药品, 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。