

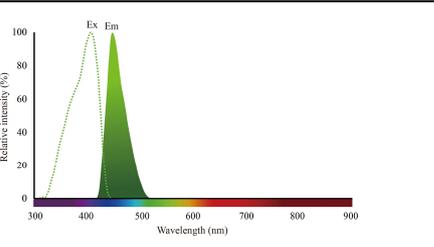
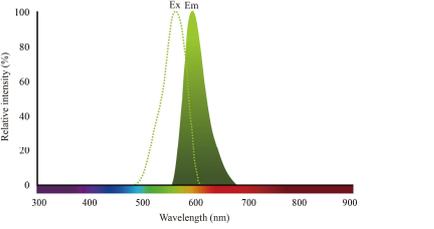
# 产品说明书

## 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 <sub>max</sub> /Em (nm)	A <sub>280</sub> /A <sub>max</sub> or C <sub>r</sub> (protein)	Extinction coefficient(ε)	Optimal DOL(IgG)	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 NaHCO<sub>3</sub> 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

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

a.  $\epsilon_{\text{pro}}$  为蛋白的摩尔吸光系数；

b.  $A_{280}$  和  $A_{\text{max}}$  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.  $\epsilon_{\text{max}}$  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 NaN<sub>3</sub> 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。

