

R-Phycoerythrin (PE) 藻红蛋白

产品编号	产品名称	包装规格
NBS2025-1mg	R-Phycoerythrin (PE) 藻红蛋白	1mg

产品简介：

R-藻红蛋白 (PE) 是从红藻中分离出来的。其主要吸收峰位于 565nm，次要吸收峰位于 496 和 545nm。不同类型的 R-PE 之间次级峰的相对突出程度存在明显差异。PE 有三种类型的亚基： α (20000daltons)、 β (20000daltons) 和 γ (30000daltons)，PE 的 α 亚基仅含有藻红蛋白 (PEB) 发色团，而 β 和 γ 亚基同时含有 PEB 和藻胆蛋白 (PUB)。不同类型 PE 吸收光谱的可变性反映了亚基 PEB/PUB 比值的差异。PE 和与 B-PE 是最强烈的荧光藻胆蛋白，量子效率可能超过 90%，在任何中等浓度的溶液中，其橙色荧光都很容易被肉眼看到。

通常，当作为硫酸铵沉淀物冷藏储存时，藻胆蛋白具有良好的长期稳定性。纯化的胆脂蛋白可以在酸性或碱性条件下解离成亚基，但在室温下在中性 pH 下相对稳定，浓度大于 0.1mg / mL。解离的亚基通常比天然色素的着色和荧光更低。建议将所有藻胆蛋白及其结合物（优选在中性缓冲溶液中）冷藏保存。

产品特性：

- 1) 分子量：约 240000
- 2) 溶剂：水
- 3) Ex/Em: 565/575

保存条件：

4°C避光干燥保存，1 年有效。

产品使用：(仅供参考)

PE 与抗体的缀合实验方案

注 1：整个缀合过程可以在一天内完成。但是，缀合前对 PE 的纯化可能需要 24-48 小时。除了下面列出的材料外，您还需要浓度至少为 2 mg/ml 的抗体溶液。请您在进行 PE 抗体缀

合实验之前熟悉如何使用脱盐柱以及如何获取吸光度光谱。

注 2：SMCC-PE 缀合物非常稳定（在“交换缓冲液”中，在 4°C 下至少可以稳定几个月）。因此，如果您需要节省一部分时间，可以选择同时缀合 10 毫克或更多的 PE，并将其用于几次抗体实验（在几周内）。SMCC-PE 的长期储存最好是作为饱和硫酸铵沉淀物。

一. PE 的制备

1. 将 PE 纯化。缀合前的浓度通常为 5-10 mg/ml。注意：PE 在缀合前作为 SAS（硫酸铵钠）沉淀物最稳定。如果将 PE 以 SAS 沉淀物的形式储存，则必须在使用前进行大量纯化。
2. 使用 3.5 毫克 R-PE 修饰每毫克 IgG，包括在缓冲液交换过程中损失的额外 10%。
3. 检查 PE 的纯度和浓度，请测量 280、565 和 620 nm 处的吸光度。（1 mg/ml 的 PE 在 565nm 处的 OD 为 8.2）。565/620 比率 > 50 表示已充分去除污染的藻蓝蛋白；565/280 比率 > 5 表示已充分去除所有其他蛋白质。

二. PE 的活化

1. 使用前在无水 DMSO 中制备 10 mg/ml 的 SMCC 储备溶液。
2. 每毫克 PE 加入 11 μ l SMCC，并进行涡旋。将反应管用铝箔包好，室温下旋转 60 分钟。
3. 将纯化的 PE 过凝胶过滤柱来交换缓冲液。

注意：对于失败或效果较差的结合，增加或减少 SMCC 相对于 PE 的量，可能会有所好转。

三. IgG 还原

1. 在蒸馏水中制备 1M DTT (15.4 mg/100 μ l) 的新鲜溶液。
2. IgG 溶液浓度应为 4 mg/ml 或更高，这样效果比较好。还原几乎可以在任何缓冲液中进行；MES、磷酸盐和 TRIS 缓冲液（pH 范围为 6 至 8）已被验证可以使用。如果抗体浓度低于 2 mg/ml，则应浓缩。缓冲液交换柱上的损失应额外增加 10%。
3. 用 DTT 配制 20 mM IgG 溶液：每毫升 IgG 溶液加入 20 μ l DTT 原液并搅拌。室温下静置 30 分钟，无需额外搅拌（以尽量减少半胱氨酸再氧化为胱氨酸）。
4. 将还原的 IgG 通过预平衡的“交换缓冲液”过滤柱。收集 0.25 毫升的级分，测定蛋白浓度，并将含有大部分 IgG 的级分汇集在一起。可以通过分光光度法或比色法完成。
5. 此步骤后尽快进行缀合。

注意：对于结合较差或失败的情况，降低 DTT 浓度可能会有所帮助。

四. 进行缀合

1. 每毫克 IgG 添加 3.2 毫克 SMCC-PE。用铝箔包裹反应管并在室温下旋转 60 分钟。

注意：这些摩尔比（每 IgG 约 2 个 PE）效果很好。对于失败或效果不佳的结合，不同的摩尔比可能会有所帮助。

2. 60 分钟后，必须去掉 IgG 上未反应的游离巯基。

3. 在 1.0 ml 无水 DMSO 中制备 10 mg NEM 的新鲜溶液。
4. 每毫克 IgG 添加 34 μg (3.4 μl)。室温下包裹并旋转 20 分钟。

注意事项:

1. 荧光染料都存在淬灭问题, 操作或保存过程中尽量避光, 减缓荧光淬灭。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其它用途!

相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS2023-10ug</u>	<u>EGFP 重组增强型绿色荧光蛋白</u>	10ug
<u>NBS2024-1mg</u>	<u>PerCP 多甲藻黄素-叶绿素-蛋白复合物</u>	1mg
<u>NBS2025-1mg</u>	<u>R-Phycoerythrin (PE) 藻红蛋白</u>	1mg
<u>NBS2026-1mg</u>	<u>CL-APC 交联别藻蓝蛋白</u>	1mg
<u>NBS2027-1mg</u>	<u>Allophycocyanin APC 别藻蓝蛋白</u>	1mg