

荧光素-5-马来酰亚胺 (巯基染料) Fluorescein-5-maleimide (Thiol Dye)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7614-25mg	Fluorescein-5-maleimide (Thiol Dye) 荧光素-5-马来酰亚胺 (巯基染料)	25mg

产品简介:

荧光素-5-马来酰亚胺 (Fluorescein-5-maleimide) 是一种活化的荧光分子 (Ex/Em=494/518nm), 能非常容易的将荧光素连接到蛋白上。马来酰亚胺基团在 pH 7 的最佳体系内与半胱氨酸侧链上的巯基基团反应, 形成一稳定的硫醚键。马来酰亚胺基团在 pH 7 时与游离巯基反应活性比胺基强~1000 倍。而在 pH > 7.5 与伯胺的反应活性提高, 且会发生马来酰亚胺基团水解现象。荧光素-5-马来酰亚胺能用来标记蛋白, 用于检测构象变化, 多亚基复合物的组装和配基结合过程。

产品特性:

- 1) CAS NO: 75350-46-8
- 2) 化学名:
1-(3',6'-Dihydroxy-3-oxospiro[isobenzofuran-1(3H),9'-[9H]xanthen]-5-yl)-1H-pyrrole-2,5-dione
- 3) 同义名: 5-Maleimido-fluorescein; 5-MF; N-(5-Fluoresceinyl)maleimide; 5-马来酰亚胺荧光素;
- 4) 分子式: C₂₄H₁₃NO₇
- 5) 分子量: 427.37
- 6) 纯度: > 97%
- 7) Ex/Em: 494/518nm
- 8) 外观: 浅橘色至深橘色和浅红色至深红色粉末
- 9) 溶解性: 溶于 DMSO、DMF
- 10) 反应基团: 马来酰亚胺, 与巯基反应 (pH 6.5-7.5)

保存条件:

-20℃避光干燥保存, 2 年有效。

产品使用:【仅做参考】需根据具体应用来优化以下标记步骤。

A、标记蛋白

- 1) 于 20mM 磷酸钠缓冲液, 150mM NaCl, pH 7.2 或其他适合的缓冲液 (pH 6.5-7.5) 内准备含巯基样品。为了预防金属催化生成二硫键, 体系内加入终浓度 5-10mM 的 EDTA。
- 2) 往样品内加入摩尔量远高的荧光素-5-马来酰亚胺。通常情况, 使用 25 倍高的摩尔比能得到理想结果。【注意】: 荧光素-5-马来酰亚胺能直接加入水溶性溶液 (高达 1mM 浓度) 或首先溶解在 DMF (10mM) 在加入蛋白溶液中。
- 3) 进行偶联反应, 室温 2h 或 4℃过夜。
- 4) 用截留分子量 (MWCO) 为 10 kD 的脱盐柱或透析袋来去除未结合的荧光素。
- 5) 将偶联好的蛋白或多肽避光保存在 4℃, 稳定保存高达一个月。或按照单次用量分装, 保存在-20℃。

B、计算标记效率

【注意】: 为了得到最佳的结果和精确测定标记率 (F/P 值), 需完全去除未反应的荧光素。有必要稀释少量脱盐或透析样本。

- 1) 使用 1cm 比色皿, 测定标记蛋白在 280nm 和 495nm 处的吸光值。
- 2) 计算蛋白浓度。

ϵ = 蛋白摩尔吸光系数 (比如, IgG 的摩尔吸光系数 $\sim 210,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

$A_{\max} = A_{495}$

$CF = \text{校正系数} = A_{280} / A_{\max} = 0.3000$

× 稀释倍数

- 3) 计算标记效率

$\epsilon' = \text{荧光素摩尔吸光系数: } 68,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

摩尔荧光素/摩尔蛋白 = × 稀释倍数

注意事项:

1. 马来酰亚胺对湿度很敏感。需将本品保存在-20℃, 保持干燥。开盖前一定要将本品放到室温回温, 以避免产品受潮而凝结成团。
2. 使用前才配制试剂。不可将试剂保存在水溶液内。
3. 用荧光素-5-马来酰亚胺标记的分子必须含有游离的巯基 (-SH)。某些含巯基分子在溶液

中可能被氧化，形成二硫键，从而不能与马来酰亚胺反应。二硫键可被还原生成游离巯基。还原后，大部分的还原剂必须在偶联反应前去除。

- 偶联反应体系内不要引入含巯基组分，因其会与马来酰亚胺反应，进而抑制和降低目的分子的连接率。
- 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他用途！

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS7612-10mg</u>	<u>Monobromobimane (mBBr) 单溴二胺 (巯基染料)</u>	10mg
<u>NBS7613-25mg</u>	<u>ABD-F (Thiol Dye) 巯基染料</u>	25mg
<u>NBS7614-25mg</u>	<u>Fluorescein-5-maleimide (Thiol Dye)</u> <u>荧光素-5-马来酰亚胺 (巯基染料)</u>	25mg