

R-藻红蛋白 (PHYCOERYTHRIN,R-PE)

一、产品信息

产品名称: 藻红蛋白 (R-PE) 晶体/冻干粉

货号: R36560

规格: 5mg/50mg

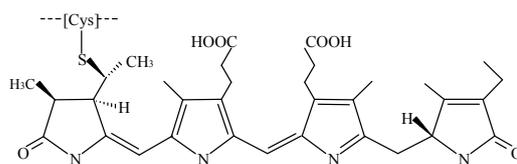
技术指标: A565/A280>5.3 A565/A496<1.5 A620/A565<0.01

二、产品简介

藻红蛋白是从红藻中分离纯化的,能发出强烈的荧光,具有很好的吸光性能和很高的量子产率,在可见光谱区有很宽的激发及发射范围。用常规的标记方法可以很方便地将其与生物素、亲和素和各种单克隆抗体结合起来制成荧光探针,用于荧光显微检测、荧光免疫测定、双色或多色荧光分析、癌细胞表面抗原检测、流式细胞荧光测定等抗体荧光标记以及活体成像应用等诊断及生物工程技术。

三、产品性质

结构: 分子结构为通过硫醚键连接的载体蛋白与开链线性延展的四吡咯化合物。



Cys-PEB

分子量:约 240,000 道尔顿

组成: 蛋白的亚基组成为(alpha-beta)₆gamma。每个 alpha-亚基和 beta-亚基约 20,000 道尔顿, 每个 gamma 亚基约 30,000 道尔顿。

纯度: A_{max}/A₂₈₀ > 5.3

最大吸收峰: 480; 565; ±5 nm

荧光发射峰: 575; ±5 nm

四、运输及储存

藻红蛋白晶体为常温运输，4℃保存，至少4年有效

五、产品优势

- 1、在较宽的PH范围内具有较宽的吸收光谱，比较容易选择合适的激发波长，从而得到高效荧光发射，且激发时有特异的荧光发射峰；
- 2、吸光度和荧光量子产率很高，荧光强而稳定，灵敏度高；
- 3、具有较小的荧光背景，不易淬灭，荧光保存期较长；
- 4、水溶性极佳，易与其他分子交联结合，非特异性吸附少；
- 5、纯天然海洋生物提取，无任何毒副作用，不含放射性，操作使用非常安全。易与抗体、生物素、亲合素、免疫蛋白等物质结合，制成荧光探针。

六、操作流程

1、脱盐预处理：

- 1)、使用前将试剂管中藻红蛋白晶体（沉淀）状态溶液混匀；
- 2)、取 200μl 的藻红蛋白晶体混合液，4℃条件下 12000rpm 离心 5 分钟，用移液枪小心的完全吸走上清液（一定尽可能完全移去上清，否则比较难溶），仅保留晶体、沉淀部分；
- 3)、用 200μl PBS 缓冲液充分溶解晶体沉淀，溶解时间约为 60 分钟（或 4℃过夜）后，4℃条件下 12000rpm 离心 10 分钟后，去除沉淀，留上清橙红色溶液备用；

2、脱盐

- 1)、离心式脱盐柱脱盐（10 分钟内即可脱盐，脱盐柱可重复使用，建议一次性使用，推荐脱盐方法）

①、平衡脱盐柱

取脱盐柱，加入 800μl 藻红蛋白所需置换的缓冲液，静置 2min，1000×g 离心 2min，去除收集液。再加入 200μl 上述缓冲液，静置 10-30S，1000×g 离心 2min，去除收集液。

②、样品处理

加入需要处理的蛋白样品，静置 10-30S，1000×g 离心 2min，收集回收藻红蛋白溶液。于 4℃避光保存备用。

③、脱盐柱的再生和保存

将使用过的脱盐柱，2 次加入 300μl 0.2M NaOH 溶液，静置 2min，1000×g 离心 2min。然后 3 次加入 300μl 去离子水，静置 2min，1000×g 离心 2min。

将处理好的脱盐柱，加入 20%乙醇溶液，保存即可。

2)、离心式超滤管脱盐:

①、选择超滤膜为 50K 或 100K MWCO 的超滤离心管;

②、将预处理 3) 步所得藻红蛋白溶液移入超滤离心管中, 再加入 300 μ l 缓冲液混匀, 4 $^{\circ}$ C 条件下, 3000 \times g, 超滤 10min 去除滤出液, 用 500 μ l PBS 重新混溶 R-PE 后超滤, 重复此操作 3 次;

③、收集无盐的 R-PE 溶液, 配制为浓度为 5mg/ml, 放于 4 $^{\circ}$ C 避光保存备用;

3)、透析袋脱盐:

①、选择透析袋, 截留分子量 \times 2 小于 240KD 均可;

②、配制适合自己需要的透析 PBS 缓冲溶液, 建议 PH 值范围为 6.8 到 7.4 之间;

③、将预处理 3) 步所得藻红蛋白溶液步所得溶液装入透析袋中, 于 200mlPBS 缓冲液中透析, 透析 2h 后, 再换用 200mlPBS 缓冲液透析, 重复上述操作换 4 到 5 次缓冲液或过夜即可。

④、将透析脱盐的 R-PE 溶液 4 $^{\circ}$ C 离心 30 分钟, 去除沉淀后浓缩成浓度为 5mg/ml, 放于 4 度避光保存备用。

3、注意事项:

由于脱盐后的 R-PE 溶液容易变性, 或长菌, 建议现用现处理。或将脱盐后的浓缩 R-PE 添加适量甘油短期保存于 4 $^{\circ}$ C 备用。

七、参考文献

Glazer, A. N. Phycobilisomes: structures and dynamics. *Ann. Rev. Microbiol.* 36:173-198 (1982).

Kronick, M. N. The use of phycobiliproteins as fluorescent labels in immunoassay. *J. Imm. Meth.* 92:1-13 (1986).

MacColl, R. and D. Guard-Friar. *Phycobiliproteins*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. (1987).