Pacific Blue SE

光谱串色低、光稳定性佳，高效共价标记含伯氨基生物大分子

产品货号：B40927

产品规格：5 mg

储运条件：-20 ℃避光保存，冰袋运输

产品简介：

Pacific Blue SE是具有胺反应性的琥珀酰亚胺酯是自主制备**蓝色荧光生物偶联物的标记试剂**，核心组分为高纯度Pacific Blue SE活性染料。本品依托香豆素母核上的琥珀酰亚胺酯SE活性基团发挥标记作用，在弱碱性环境下可特异性与抗体、多肽、氨基修饰寡核苷酸表面伯氨基发生亲核取代反应，形成稳定酰胺键，实现荧光基团与生物大分子的共价偶联；其中Pacific Blue荧光骨架负责产生特征蓝色荧光，SE活性酯提供氨基靶向偶联能力。相较于AMCA、Marina Blue等传统香豆素类蓝色荧光试剂，**染料pKa低至 3.7，生理pH区间荧光强度稳定，不易发生pH依赖性淬灭；光谱与FITC、PE、APC等常用荧光团重叠度低，光稳定性优异、偶联产物信噪比更高**，有效解决传统蓝色荧光染料激发光源受限、生理环境信号衰减、多色实验补偿难度大等痛点。适用于**抗体自主标记、蛋白荧光偶联、氨基修饰寡核苷酸标记**，广泛应用于多色流式细胞术、免疫荧光显微成像、蛋白示踪、荧光原位杂交等研究场景。

多色荧光分析是细胞亚群分群、分子定位、靶标同步检测的核心技术体系，紫激光通道长期缺少性能均衡的蓝色荧光标记原料，限制高通量多参数实验方案搭建，Pacific Blue SE为此类研究提供标准化自主标记方案。在流式细胞实验中，研究者可利用本品自制特异性荧光抗体，拓展多色流式染色面板，实现免疫细胞亚群精细分群、胞内信号蛋白磷酸化水平同步检测；在荧光显微领域，标记产物可用于细胞表面抗原与胞内靶蛋白共定位观察；同时可完成氨基修饰核酸探针标记，支撑核酸示踪与FISH检测。该试剂让科研人员灵活定制各类荧光探针，摆脱商品化预标记抗体品类局限，保障实验批次稳定性，获得重复性良好的定量与定性数据，为免疫机制研究、肿瘤标志物筛查、细胞功能解析提供可靠检测工具，有力推动基础免疫学、细胞生物学研究以及相关疾病机制探索与转化研究工作。

注：别名Pacific Blue SucciniMidyl Ester、Pacific Blue NHS ester、PB-NHS Ester　PB succinimidyl ester、Ocean Blue, SE、太平洋蓝琥珀酰亚胺酯。

注：效能等同Thermo Fisher Pacific Blue™琥珀酰亚胺酯。

注：本文中Pacific Blue™为赛默飞世尔科技(Thermo Fisher Scientific)的商标及注册商标。

应用范围：可用于抗体、多肽、氨基修饰寡核苷酸荧光标记

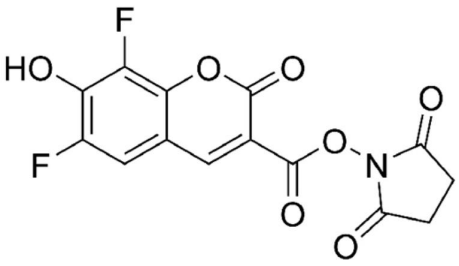
产品特点：

- **生理环境荧光稳定：**染料 pKa≈3.7，在生理 pH 范围内无明显 pH 依赖型荧光淬灭，信号稳定；
- **低光谱重叠：**蓝色荧光发射波段与 FITC、PE、APC 等常用荧光探针交叉少，多色实验补偿压力低；
- **高效共价标记：**琥珀酰亚胺酯(SE)活性基团，温和碱性条件下特异性结合蛋白、多肽、氨基修饰寡核苷酸伯氨基，形成稳定酰胺键；
- **良好光稳定性：**相比 AMCA 等传统香豆素类染料抗光漂白能力更强，成像与长时间流式检测信噪比更佳。

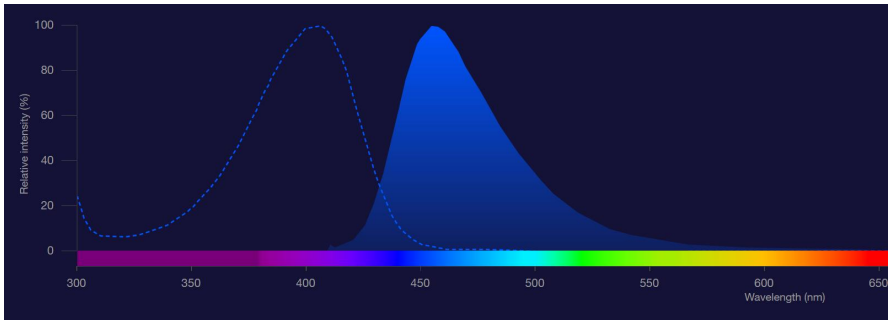
产品参数：

- **Ex/Em：**416/451 nm
- **溶解性：**DMSO、DMF
- **分子式：**$C_{14}H_7F_2NO_7$
- **分子量：**339.20
- **CAS 号：**215868-33-0
- **Extinction coefficient(ε)：**46000

- **Correction Factor CF_{280}：** 0.2
- **分子结构图：**



- **光谱图：**



产品组分：

组分	规格
A. Pacific Blue SE	5 mg

注意事项：

- 使用前请将产品瞬时离心，再进行后续操作。
- 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。

使用说明：（以标记 IgG 抗体为例）

一、 实验前准备

- 反应缓冲液：0.1~0.2 M 碳酸氢钠缓冲液，pH 8.3。

注：严禁使用含伯胺的缓冲液（Tris 等），伯胺会竞争结合染料

- DMSO/DME
- **1.5 M 羟胺溶液(pH 8.5)（可选）：**终止反应，洗脱非特异性弱结合探针。

配制方法：盐酸羟胺 210 mg/mL 溶于纯水，5 M NaOH 调 pH 至 8.5，得到 3 M 母液；等体积纯水稀释即为 1.5 M 工作液，现配现用。

- **纯化介质：**使用凝胶过滤柱分离标记抗体与游离染料，推荐填料：Sephadex G-25、BioGel P-30
- **蛋白：**如 IgG 抗体等

二、 操作步骤

1. 蛋白溶解：

（1）使用 0.1 M 碳酸氢钠缓冲液溶解蛋白，反应终浓度控制 5~20 mg/mL。

注：浓度＜2 mg/mL 标记效率大幅下降。蛋白溶液不得含 Tris、甘氨酸、铵离子、BSA 等含氨基稳定剂；

若原缓冲液含氨基，先使用 PBS 透析去除；每 1 mL 抗体溶液添加 0.1 mL 1 M 碳酸氢钠（pH 8.3~9.0）调节反应 pH；体系中叠氮化钠浓度＜3 mM 不影响反应。

2. 染料母液配制：

（1）使用 DMSO 溶解 Pacific Blue 琥珀酰亚胺酯，调整浓度为 10 mg/mL。

3. 反应：

（1）持续搅拌/涡旋蛋白溶液，缓慢滴加 50~100 μL 染料母液（对应染料 0.5~1 mg）。

（2）室温持续搅拌 1 h。

4. 终止反应：（可选）

（1）加入 0.1 mL 新鲜配制 1.5 M 羟胺（pH 8.5），室温孵育 1 h。

5. 分离纯化与保存：

（1）使用 PBS 或其他合适的缓冲液，于色谱柱进行纯化。

（2）标记后的蛋白储存条件：将偶联物储存在与母体蛋白相同的条件下即可。

注：溶液 2~8 ℃保存时添加 2 mM 叠氮化钠防腐。

6. 计算染料-蛋白共轭物浓度:

染料-蛋白共轭物浓度的确定可通过以下公式计算：

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

a. C 是指染料-蛋白共轭物浓度。

b. 稀释因子是指在光度测量时的稀释倍数。

c. A_{280} 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。

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，因此需要稀释至约 0.1 mg/mL。

7. 结合比例(DOL)计算:

DOL 通过下式计算：

$$DOL=（A_{max}\times Mw\times 稀释因子）/(\varepsilon\times C)$$

a. Amax，稀释因子，C 值见步骤 6。

b. Mw 是指蛋白的分子量。

c. ε是消光系数。

常见疑问与解答：

- 问：SE染料如何标记IgM抗体呢？

  答：常规 IgM 标记采用中性 pH 缓冲液，用磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)将 IgM 抗体溶解至浓度为 2.5~5 mg/mL。需要注意的是：中性 pH 条件下，水解反应优于标记反应，因此 IgM 标记需使用更高的染料比例（摩尔比约为 50：1 或 100：1）；在搅拌或涡旋蛋白质溶液的同时，向每毫升抗体溶液中逐滴加入 70~140 μL 10 mM 染料储备液，对应的染料与 IgM 摩尔比为 50：1 至 100：1；若需更多染料以达到最佳标记度(DOL)，可将储备液浓度提高至 20 mM。

- 问：蛋白未被标记可能的原因是什么？

  答：可能有以下两点原因：

  a.可能是偶联缓冲液含伯胺类物质（如 Tris、甘氨酸），干扰反应；应该使用不含伯胺的偶联缓冲液（如硼酸盐缓冲液、碳酸盐缓冲液或 PBS）。

  b.可能 NHS 酯发生水解，失去反应活性；标记试剂临用前现配，禁止将 NHS 酯试剂存放于水溶。

- 问：Pacific Blue SE、Alexa Fluor™ 405 SE、AMCA SE有什么区别？如何选择？

  答：用于蛋白或抗体标记，核心差异在激发光源、光谱、分子位阻：

区别	Pacific Blue SE	Alexa Fluor™ 405 SE	AMCA SE
Ex/Em	410/455 nm	402/421 nm	348/435 nm
光谱窗口	405 nm 激发，蓝色	405 nm 激发，紫蓝色	紫外激发，不适用 405 nm 激光
位阻	小分子香豆素，分子量小；标记后对抗体/蛋白抗原结合干扰更小	分子量更大，空间位阻略大	小分子氨基香豆素，分子量小，位阻低；但受限于紫外光路。

注：文件版本：2026 年 9 月 4 日第 2 次修订