BF™431 SE (DY)

兼具高亮度、优异抗光漂白性与伯胺反应特异性，无需额外活化即可实现高效标记

产品货号：B40637

产品规格：1 mg

储运条件：-20 ℃避光保存，冰袋运输

产品简介：

BF™431 SE是一款**NHS酯型高性能荧光染料**，在弱碱性体系中，其高活性琥珀酰亚胺酯基团可特异性共价修饰生物分子表面的伯氨基，形成稳定不可逆的酰胺键，实现高效、无损的荧光修饰。相较于AMCA等传统蓝紫光染料，**本品结构稳定性更强、抗光漂白性能优异，标记特异性高、非特异背景干扰低，信号均匀稳定。**同时染料自身的共轭荧光母核不受反应影响，荧光量子产率、摩尔消光系数等核心光学性能无明显衰减，在高标记度条件下仍无显著分子内自淬灭效应，充分保障标记产物的荧光亮度与信号稳定性。

BF™431 荧光染料相较于Alexa Fluor™430，**该染料具有高摩尔消光系数可吸收更多激发光，有助于获得更强荧光信号。**作为新一代高性能荧光标记试剂，专为蛋白、抗体、多肽及氨基修饰核酸的特异性共价标记设计，可通过差异化光谱搭配实现多色同步标记，有效改善传统染料偶联效率低、亮度不足、光稳定性差、非特异性干扰强等行业痛点。兼容主流荧光检测设备与多种生物样本体系，通用性、兼容性与检测信噪比全面优于传统标记试剂。既可满足流式分析、荧光显微观测等常规基础实验的稳定检测需求，也能支撑高通量药物筛选、病理机制研究等高端科研场景，凭借稳定的标记重复性与精准的信号输出，为生命科学基础研究与医学应用转化提供可靠、高效的荧光技术支撑。

注：B40637 效能等同于Dyomics DY-431 SE。

应用范围：用于抗体、蛋白质、核酸的荧光标记，适配免疫检测、蛋白功能研究、分子杂交、细胞成像及生物医学研究。

产品特点：

- **高亮度与光稳定性：**作为新一代荧光染料，具备优异的亮度表现和强抗光漂白能力，提升检测信噪比，保障实验数据的准确性与可靠性；
- **反应活性与稳定性兼具：**SE 型为经典胺反应活性形式，可与抗体、蛋白质等含胺基团生物分子快速反应形成稳定酰胺键；
- **兼容性广泛：**克服传统荧光染料局限性，适配多种标记场景——可用于 IgG/IgM 抗体、各类稳定蛋白质标记。

产品参数：

- **Ex/Em：**442/496
- **分子量：**741.71
- **Extinction coefficient(ε)：**35000
- **溶解性：**Soluble in water, methanol, ethanol, DMF, DMSO
- **Correction Factor CF_{280}：**0.25

产品组分：

组分	规格
A. BF™ 431 SE (DY)	1 mg

注意事项：

- 标记的蛋白如需长期储存，推荐加入5~10 mg/mL BSA和0.01~0.03% NaN_3，以防止蛋白变性和微生物滋生。
- 操作过程注意避光，搅拌速度应适当以避免产生气泡。
- 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。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明：（以标记 IgG 抗体为例）

一、 实验前准备

1. 试剂准备

（1）蛋白标记（如 IgG）：待标记溶液中严禁含有氨基酸、Tris 等含伯胺成分。若含有此类化学物质，应用 pH≈7.4 的 PBS 缓冲液预先透析处理。

注：低浓度叠氮钠（≤3 mM 或 0.02%）或硫柳汞（≤0.02 mM 或 0.01%）不会对蛋白标记产生显著干扰；但 20%~50%的甘油会降低标记效率。

（2）无水 DMSO/DMF

（3）$NaHCO_3$

（4）PBS 缓冲液(pH≈7.4)

（5）NaN_3, BSA（用于标记后蛋白稳定保存）

二、 操作步骤

1. 抗体预处理

（1）用 0.1 M 的 $NaHCO_3$ 溶液(pH≈8.3)稀释抗体，使抗体终浓度为 2.5 mg/mL。若抗体原液为无胺基杂质的 PBS 体系，可直接加入约 1/10 体积 1 M 的 $NaHCO_3$ 母液，使 $NaHCO_3$ 终浓度为 0.1 M。

注：

a. 蛋白浓度为 2.5 mg/mL 时，标记效率大概为 35%，低于 2.5 mg/mL 时标记效率会降低；高于 5 mg/mL 时，可提升标记效果。由于缓冲液和蛋白纯度存在差异性，因而更精确的标记效率由实操条件决定。如果蛋白浓度过低，可以通过超滤法进行浓缩。

b. 本产品最优标记条件为弱碱性环境，推荐使用 0.1 M $NaHCO_3$(pH≈8.3)体系；亦可选用 0.05 M 硼酸钠缓冲液(pH≈8.5)、0.1 M 碳酸钠缓冲液(pH 8.3~9.0)作为替代反应体系。

2. 染料储存液制备

（1）染料取出后室温回温平衡，避免开盖冷凝水汽导致活性酯水解，加入无水 DMSO/DMF 充分涡旋溶解染料，静置 5~10 min 确保完全溶解，配制浓度为 10 mM 的染料储存液，微量标记实验可按需稀释母液降低浓度。

注：剩余的染料储存液应于-20 ℃低温存放，以备后续使用。使用无水 DMSO 配制染料储存液，那么染料至少可以保存一个月。

3. 标记偶联反应

（1）轻柔混匀抗体溶液，逐滴缓慢滴加 15~25 μL 10 mM 染料储备液，控制染料：IgG 摩尔比 9：1 ~ 15：1。

（2）在室温避光轻柔搅拌或摇床振荡孵育 1 h，完成特异性共价偶联标记。

4. 游离染料去除与产物纯化

（1）将标记反应后的混合液转入截留分子量≥10 kDa 的透析膜中，以 pH≈7.4 PBS 为透析缓冲液进行换液纯化。

注：

a. 必须彻底去除未反应的游离染料，方可测得精准的染料-蛋白标记比值，保障实验结果准确可靠。推荐透析时长约 4 h，期间更换 3 次新鲜 PBS 透析缓冲液，可完全去除残留游离染料，达到最优纯化效果。

b. 对于小规模的标记反应，为了避免过度稀释产物，可以使用超滤装置去除结合物中的自由染料。

c. 若无法及时纯化，可加入 50 μL 1 M 赖氨酸溶液终止剩余活性酯反应；常规体系中未反应染料会自行水解，一般无需终止操作。

5. 标记产物保存方法

（1）长期稳定保存建议添加终浓度 5~10 mg/mL BSA、0.01%~0.03% NaN_3，分装单次用量后-20 ℃避光冻存，可稳定存放一年以上。

三、 DOL 测定

1. 抗体蛋白浓度计算

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

注：C 为纯化后抗体浓度；Cf 为对应染料 A_{280} 校正因子；Amax 为染料最大吸收波长吸光度。

2. DOL 标记摩尔比计算

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

注：Mwt 是指 IgG 的分子量(150,000)；ε为摩尔吸光系数。

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 酯试剂存放于水溶液中。

- 问：Alexa Fluor™、CF®、与我司的BF™与PO类荧光染料，在抗体标记实验中，有没有区别？

  答：BF™荧光染料可替代 Alexa Fluor™、CF®荧光染料，BF™标记的抗体完全兼容现有共聚焦显微镜、流式细胞仪等所有商用仪器的标准滤光片通道。BF™荧光染料对抗体无实质差别标记。PO 类荧光染料可替代 Leica ATTO 类荧光染料，对与抗体标记无实质区别。

注：文件版本：2026 年 10 月 19 日第 4 次修订