

自带荧光的藻蛋白家族（一）

藻胆蛋白是源自微藻和蓝细菌的光合作用光捕获蛋白家族。这些蛋白质具有共价连接的线性四吡咯基团，称为藻胆素，其在捕获光能中起关键作用。在微藻和蓝细菌中，由这些藻胆素吸收的能量通过荧光共振能量转移（FRET）有效地转移到叶绿素色素用于光合作用反应。

与化学合成荧光染料相比，藻胆蛋白由于其相对高的荧光量子产率和消光系数而发出强烈的荧光信号。因为它们的荧光不被生物分子猝灭，所以藻胆蛋白可以在许多应用中用作有价值的荧光标签。与生物分子（例如免疫球蛋白，蛋白 A 或链霉抗生物素蛋白）缀合的藻胆蛋白已经在流式细胞术，荧光激活细胞分选（FACS），组织化学，成像和有限程度的活性氧物种检测中取得了巨大成功。两种主要类型的藻胆蛋白是市售的藻红蛋白（PE）和别藻蓝蛋白（APC）。

藻红蛋白（PE）

PE（Cat # 2558）显示出强烈明亮的黄橙色荧光，消光系数（ ϵ ）为 $1,960,000 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ，量子产率（ Φ ）为 0.84。相比于 Cy3 的[®]（目录号 141），它具有 $150,000 \text{ cm}^{-1}$ 的消光系数（ ϵ ）和 0.24 的量子产率（ Φ ），PE 是显著亮。其吸收光谱，其特征在于三个吸收带，在 565nm 处显示出主吸收峰，在 496nm 和 545nm 处具有两个次级峰。次生峰的相对突出性在来自不同物种的 PE 之间显着不同。

藻红蛋白有两种形式。从 Rhodophyta 分离的 R-藻红蛋白 (R-PE) 和从 Bangiales 分离的 B-藻红蛋白 (B-PE)。B-PE 和 R-PE 均由三种类型的亚基组成： α (~20,000 道尔顿)， β (~20,000 道尔顿) 和 γ (~30,000 道尔顿)。虽然它们具有相似的亚基结构，但它们的亚基的发色团含量不同导致其吸收峰的相对强度的差异。

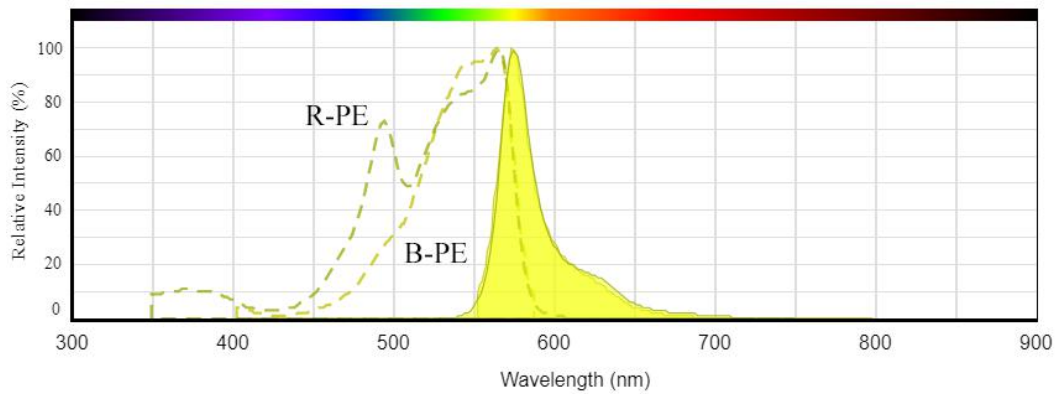


图 1. R-PE 和 B-PE 的吸光度和发射光谱的比较

表 1. R-PE 和 B-PE 的光谱性质

属性	R-PE	B-PE
共同的亚基	$(\alpha\beta)_6 \uparrow \gamma$	$(\alpha\beta)_6 \uparrow \gamma$
MW	240000	240000
吸收最大	565 纳米	545nm 处
额外的吸收峰值	498 纳米	563nm
排放量最大	573 纳米	572nm
消光系数 (ϵ)	$1.96 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	$2.41 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

量子产率 (QY)	0.84	0.98
亮度 ($\epsilon \times QY$)	$1.65 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	$2.36 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
产品规格	A566 / A280 ≥ 5.0	A545 / A280 ≥ 5.5
	A566 / A498 < 1.5	A620 / A546 ≤ 0.01
	A620 / A566 < 0.01	

别藻蓝蛋白 (APC)

APC (Cat # 2554) 呈现明亮的远红色荧光, 消光系数为 $700,000 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$, 量子产率 (Φ) 为 0.68。相比于 Cy5 的[®] (目录号 151), 其具有的消光系数 ($\epsilon = 250,000 \text{ 厘米}^{-1} \text{ 中号}^{-1}$) 和 Cy5 的量子产率 ($\Phi = 0.20$)[®], APC 是显著小市民。它具有在 652nm 处的主要吸收最大值, 在 625nm 处具有次要最大值。APC 在 662nm 处具有最大荧光发射, 其处于可见光谱的红色区域。

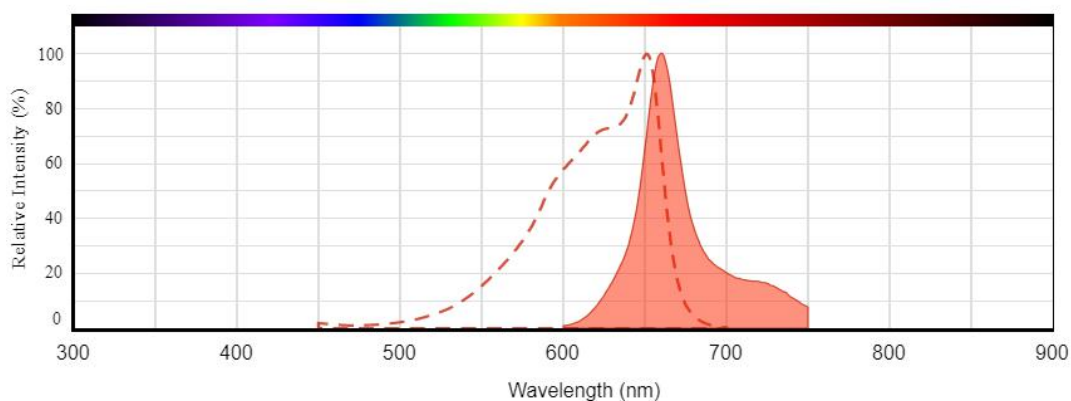


图 2. APC 的激发和发射光谱

表 2. APC 的光谱性质

属性	APC
共同的亚基	$(\alpha\beta)_3$
MW	105000
吸收最大	651nm
排放量最大	662nm
消光系数 (ϵ)	$7.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
量子产率 (QY)	0.68
亮度 ($\epsilon \times \text{QY}$)	$4.9 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
产品规格	$A_{650} / A_{620} \geq 1.25$
	$A_{650} / A_{280} \geq 4.5$
	交联率 ≥ 1.0