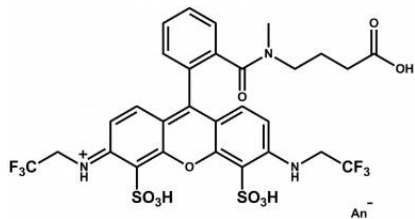
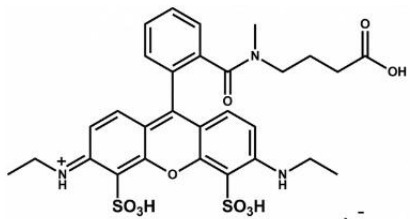


ATTO 514

ATTO 514 ist ein patentierter Fluoreszenzmarker aus der Familie der Rhodamin-Farbstoffe mit hervorragender Wasserlöslichkeit.

Eine strukturelle Besonderheit sind zwei Trifluorethyl-Substituenten an den Aminogruppen des Rhodamin-Chromophors. Diese stark elektronenziehenden Gruppen beeinflussen sowohl optische als auch chemische Eigenschaften des Farbstoffs.

Absorption und Fluoreszenz verschieben sich etwa 20 nm kurzwellig. Dies zeigt ein Vergleich der spektroskopischen Daten von ATTO 514 und ATTO 532 – gemessen bei 22 °C in wässriger Lösung (PBS, pH 7,4):

	ATTO 514 Carboxy	ATTO 532 Carboxy
Strukturformel		
λ_{abs}	511 nm	532 nm
λ_{fl}	532 nm	552 nm

Die Trifluorethyl-Substitution wirkt sich auch auf die chemische Stabilität der o-Carboxamidgruppe aus.

Bei der Verwendung von z.B. ATTO 514 NHS-Ester zur Markierung von Aminogruppen in Biomolekülen wurde gelegentlich beim Aufkonzentrieren des gereinigten Kopplungsprodukts in Triethylammoniumacetat-Puffer (TEAA-Puffer) eine Abspaltung des Chromophors vom Konjugat beobachtet. D. h. nur der Aminobuttersäure-Rest bleibt ans Biomolekül gebunden und bewirkt eine Massenzunahme von $\Delta m \approx 100$ Dalton gegenüber dem ungelabelten Protein bzw. Oligonucleotid.

Für Reaktionen mit ATTO 514-Derivaten beachten Sie bitte unsere ATTO-TEC Kopplungsvorschriften, z. B. im Falle des NHS-Esters die kurze Reaktionszeit von 30 – 60 Minuten bei pH 8,3.

Für die Aufarbeitung des gebildeten ATTO 514-Biomolekül-Konjugats geben wir folgende Empfehlungen:

- 1) Verwenden Sie PBS- statt TEAA-Puffer.
- 2) Reduzieren Sie die Molarität des Puffers, z. B. 0,1 M statt 1 M.
- 3) Stellen Sie den pH-Wert vor dem Aufkonzentrieren auf 6 – 7 ein.
- 4) Verwenden Sie zum Aufkonzentrieren der Konjugatlösung schonende Parameter, wie z. B. 25 °C bei einem Vakuum unter 10 mbar.