Cy琥珀酰亚胺酯

Cy Dye SE





产品货号:

货号	名称	Abs _{max} /Em	A280/Amax	Extinction	Optimal	MWt
		(nm)	or C _f (protein)	coefficient	DOL(protein)	
C5077	Cy3-E SE(Cy3-E 琥珀酰 亚胺酯)	553/569	0.09	150,000	4-12	695.6
C5078	Cy3.5-E SE(Cy3.5-E 琥 珀酰亚胺酯)	592/610	0.22	116,000	4-12	795.8
C5045	Cy5-E SE(Cy5-E 琥珀酰 亚胺酯)	648/671	0.05	250,000	4-12	721.7
C5076	Cy5.5-E SE(Cy5.5-E 琥 珀酰亚胺酯)	646/662	0.03	198,000	4-12	821.8
C5083	Cy5.5-M SE(Cy5.5-M 琥 珀酰亚胺酯)	685/707	0.03	198,000	4-12	807.8
C5046	Cy7-E SE(Cy7-E 琥珀酰 亚胺酯)	764/788	0.029	199,000	4-12	747.7
C5060	Sulfo-Cy3-E SE(Sulfo- Cy3-E 琥珀酰亚胺酯)	546/564	0.073	162,000	4-12	765.9
C5061	Sulfo-Cy5-E SE(Sulfo- Cy5-E 琥珀酰亚胺酯)	645/663	0.03	250,000	4-12	792.0
C5072	Sulfo-Cy5.5-E SE(Sulfo- Cy5.5-E 琥珀酰亚胺酯)	674/690	0.101	211,000	4-12	1128.4
C5070	Sulfo-Cy7-E SE(Sulfo- Cy7-E 琥珀酰亚胺酯)	746/772	0.036	240,600	4-12	818.0
C5089	Sulfo-Cy5 bis-SE(Sulfo- Cy5 双琥珀酰亚胺酯)	646/662	0.03	250,000	/	975.1
C5090	Sulfo-Cy5.5 bis-SE(Sulfo-Cy5.5 双琥珀酰亚胺酯)	674/690	0.101	211,000	/	1311.6



货号	名称	Abs _{max} /Em (nm)	A ₂₈₀ /A _{max} or C _f (protein)	Extinction coefficient	Optimal DOL(protein)	MWt
C5091	Sulfo-Cy7 bis-SE(Sulfo- Cy7 双琥珀酰亚胺酯)	746/772	0.036	240,600	/	1001.2

储存条件: -20°C避光保存,有效期见外包装。

产品参数

名称	分子式	分子结构图	外观颜色
Cy3-E SE(Cy3-E 琥珀酰 亚胺酯)	C35H42IN3O4		红色固体
Cy3.5-E SE(Cy3.5-E 琥珀 酰亚胺酯)	C ₄₃ H ₄₆ IN ₃ O ₄		紫红色固体
Cy5-E SE(Cy5-E 琥珀酰 亚胺酯)	C37H44IN3O4		蓝色固体
Cy5.5-E SE(Cy5.5-E 琥珀 酰亚胺酯)	C45H48IN3O4		深蓝色固体





Cy5.5-M SE(Cy5.5-M 琥珀酰亚胺酯)	C44H46IN3O4		深蓝色固体
Cy7-E SE(Cy7-E 琥珀酰 亚胺酯)	C39H46IN3O4		绿色固体
Sulfo-Cy3-E SE(Sulfo- Cy3-E 琥珀酰亚胺酯)	C35H40KN3O10S2	O ₃ S SO ₃ K	深红色固体
Sulfo-Cy5-E SE(Sulfo- Cy5-E 琥珀酰亚胺酯)	C37H42KN3O10S2	O ₃ S SO ₃ K SO ₃ K	深蓝色固体
Sulfo-Cy5.5-E SE(Sulfo- Cy5.5-E 琥珀酰亚胺酯)	C45H44K3N3O16S4	SO ₃ S SO ₃ K SO ₃ K SO ₃ K	深蓝色固体
Sulfo-Cy7-E SE(Sulfo- Cy7-E 琥珀酰亚胺酯)	C39H44KN3O10S2	Ō,S SO,K	深绿色固体
Sulfo-Cy5 bis-SE(Sulfo- Cy5 双琥珀酰亚胺酯)	C45H51KN4O14S2	O,S SO ₃ K	深蓝色固体





Sulfo-Cy5.5 bis-SE(Sulfo- Cy5.5 双琥珀酰亚胺酯)	C53H53K3N4O20S4	KO,S SO,K SO,K	深蓝色固体
Sulfo-Cy7 bis-SE(Sulfo- Cy7 双琥珀酰亚胺酯)	C47H53KN4O14S2	O ₃ S SO ₃ K	深蓝色固体

产品介绍

Cy 系列属于花菁类染料,其中 Cy SE 是非水溶性形式,Sulfo-Cy SE 是磺酸化的高水溶性形式,两者属于单反应性染料,Sulfo-Cy bis-SE 是磺酸化的高水溶双反应性染料;一般水溶性 Cy SE 推荐做抗体标记,非水溶性推荐探针标记,注意无论是水溶性还是非水溶性 Cy SE 都是推荐使用有机溶剂 DMSO 进行溶解;M 代表甲基,E 代表乙基,二者区别即分子量有所差异,对于探针标记客户需要额外注意;该系列产品被广泛用于标记肽、蛋白质和寡聚体等生物分子,特别是精细蛋白和易于变性的蛋白。 Cy 系列染料除了用于标记生物分子外,也常被用于动物活体成像。由于细胞和组织的自发荧光在近红外波段小,而近红外光在生物组织中的穿透深度较大,因此在检测复杂生物系统时,Cy 系列染料能提供更高的特异性和灵敏度。同时,Cy 系列染料还拥有紫外光区染料和同位素标记无法具备的生物安全性,有利于在活生物体中监控各种标记分子的分布。

Cy Dye SE 标记原理

实验流程

1. Cy SE 标记蛋白(常规方法)

(1) 制备染料储存液

室温预热一管 1~mg 的 Cy~SE,在管中加入适量的无水 DMSO 或 DMF(不含胺),配制浓度为 10~mM 的染料储存液。适当条件下,可以涡旋以便充分溶解染料。如果使用更微量的蛋白进行标记反应,那么染料需要稀释至更低浓度。

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

(2) 计算染料用量

Cy SE 染料用量 $[mg] = 8 \times$ 标记蛋白质量 \times Cy SE 染料分子量/标记蛋白分子量注:8,染料蛋白摩尔比,是一个实验经验值,适用于常规的蛋白、多肽标记。

(3) 用 pH 8.3-8.5 的缓冲液重悬待标记蛋白





推荐使用 pH 8.3 的 0.1 M 碳酸氢钠溶液,或者 0.1 M 磷酸盐缓冲液,蛋白浓度控制在 1-10 mg/mL 时的标记效果较好。 注意 pH 控制在 8.3-8.5 之间。避免使用含有胺的缓冲液(有时可以使用 Tris,但不推荐使用)。

注: 当进行大规模标记(几百毫克 SE)时,注意由于 SE 的水解,混合物随时间趋于酸化。需要监测 pH 值,或使用更浓的缓冲液。

- (4) 将染料加入蛋白溶液中,并涡旋混匀,冰上过夜或室温反应至少4h。
- (5) 选用适当方法纯化染料-蛋白共轭物

凝胶过滤是普遍使用的一种大分子物质纯化的方法,另外,也可以选择沉淀或色谱法分离提纯,针对蛋白或核酸的纯化, 也可选择乙醇或丙酮沉淀的方法。

(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:

$$C(mg/mL) = \{ [A_{280} - (A_{max} \times C_f)]/1.4 \} \times$$
 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. A₂₈₀ 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. C_f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。稀释倍数需要从起初抗体量以及蛋白液洗脱的总体积来进行预估。

(7) 结合比例(DOL)计算

DOL 通过下式计算:

$$DOL = (Amax \times Mwt \times 稀释因子)/(\epsilon \times C)$$

- a. Amax, 稀释因子, C值在(6)中已经明确;
- b. Mwt 是指蛋白的分子量;
- c. ε 是 Cy SE 的消光系数;

DOL 值会上下波动, 但也能得到很好的实验效果。

2. 活体成像领域

(1) 实验动物准备

根据实验需求准备需要活体成像的动物,动物分组、阴性对照、阳性对照根据具体实验设置。

(2) 成像

通过尾静脉注射、皮下注射、原位移植等方法接种 Cy Dye SE 或 Cy Dye SE 标记的生物分子或药物于动物体内。根据实验要求选择成像时间,对实验动物全身或局部部位进行荧光扫描,记录动物体内发射荧光的成像图片,分析荧光复合物(探针、药物)的分布情况。成像结束后,根据实验需要,选择是否需要解剖内脏进行成像分析。

注: a. 实验动物于成像前 6 h 开始禁食,以降低因胃肠道食物引起的背景干扰。

b.最佳用量和时间需要客户根据自己的仪器和药物试剂等条件优化。





注意事项

- 1. 溶解后的 Cy SE 溶液最好立即使用。
- 2. 荧光染料均存在淬灭问题,请尽量注意避光,以减缓荧光淬灭。
- 3. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

