

Cy Dye SE (Cy 琥珀酰亚胺酯)

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。它们可溶于有机溶剂如 DMSO、DMF 等，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。检测原理见图 1。

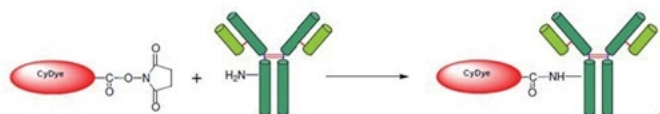


图 1 Cy Dye SE 标记原理

应用范围

蛋白标记、寡核苷酸标记、多肽小分子标记

产品信息

货号	名称	Abs _{max} /Em (nm)	A ₂₈₀ / A _{max} or C _f (prot ein)	Extincti on coeffici ent	Optimal DOL(pro tein)	MW
C50 77	Cy3-E SE (Cy3-E 琥珀酰亚 胺酯)	553/56 9	0.09	150,00 0	4-12	695. 6
C50 78	Cy3.5-E SE (Cy3.5-E 琥珀酰亚 胺酯)	592/61 0	0.22	116,00 0	4-12	795. 8
C50 45	Cy5-E SE (Cy5-E 琥珀酰亚 胺酯)	648/67 1	0.05	250,00 0	4-12	721. 7
C50 76	Cy5.5-E SE (Cy5.5-E 琥珀酰亚 胺酯)	646/66 2	0.03	198,00 0	4-12	821. 8
C50 83	Cy5.5-M SE (Cy5.5-M 琥珀酰亚 胺酯)	685/70 7	0.03	198,00 0	4-12	807. 8

货号	名称	Abs _{max} /Em (nm)	A ₂₈₀ / A _{max} or C _f (prot ein)	Extincti on coeffici ent	Optimal DOL(pro tein)	MW
C50 46	Cy7-E SE (Cy7-E 琥珀酰亚 胺酯)	764/78 8	0.029	199,00 0	4-12	747. 7
C50 60	Sulfo-Cy3 -E SE (Sulfo-Cy3 -E 琥珀酰 亚胺酯)	546/56 4	0.073	162,00 0	4-12	765. 9
C50 61	Sulfo-Cy5 -E SE (Sulfo-Cy5 -E 琥珀酰 亚胺酯)	645/66 3	0.03	250,00 0	4-12	792. 0
C50 72	Sulfo-Cy5 .5-E SE (Sulfo-Cy5 .5-E 琥珀 酰亚胺酯)	674/69 0	0.101	211,00 0	4-12	112 8.4
C50 79	Sulfo-Cy5 .5-M SE (Sulfo-Cy5 .5-M 琥珀 酰亚胺酯)	673/69 0 nm	0.101	250,00 0	4-12	152 8
C50 70	Sulfo-Cy7 -E SE (Sulfo-Cy7 -E 琥珀酰 亚胺酯)	746/77 2	0.036	240,60 0	4-12	818. 0
C50 89	Sulfo-Cy5 bis-SE (Sulfo-Cy5 双琥珀酰 亚胺酯)	646/66 2	0.03	250,00 0	/	975. 1
C50 90	Sulfo-Cy5 .5 bis-SE (Sulfo-Cy5 .5双琥珀 酰亚胺酯)	674/69 0	0.101	211,00 0	/	131 1.6
C50 91	Sulfo-Cy7 bis-SE (Sulfo-Cy7 双琥珀酰 亚胺酯)	746/77 2	0.036	240,60 0	/	100 1.2

储运条件

-20℃干燥避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

- 稳定性强：荧光亮度强，抗淬灭性好；
- 批次稳定：公司自研产品，批间差稳定；
- 选择灵活：提供多种颜色 Cy SE 染料，选择灵活方便。

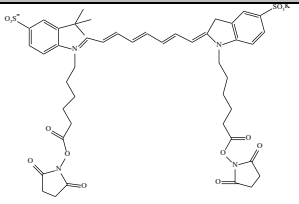
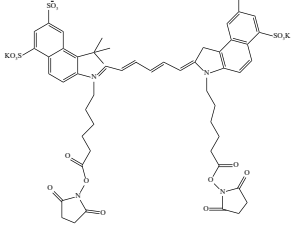
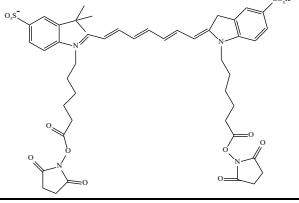
产品组分

组分	C5077/C5078/C5045/C5076/C5083/C5046/C5060/C5061/C5072/C5079/C5070/C5089/C5090/C5091
Cy Dye SE (Cy 琥珀酰亚胺酯)	1 mg

产品参数

名称	分子式	分子结构图	外观
Cy3-E SE (Cy3-E 琥珀酰亚胺酯)	C ₃₅ H ₄₂ IN ₃ O ₄		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)	C ₃₇ H ₄₄ IN ₃ O ₄		蓝色固体
Cy5.5-E SE (Cy5.5-E 琥珀酰亚胺酯)	C ₄₅ H ₄₈ IN ₃ O ₄		深蓝色固体

名称	分子式	分子结构图	外观
Cy5.5-M SE (Cy5.5-M 琥珀酰亚胺酯)	C ₄₄ H ₄₆ IN ₃ O ₄		深蓝色固体
Cy7-E SE (Cy7-E 琥珀酰亚胺酯)	C ₃₉ H ₄₆ IN ₃ O ₄		绿色固体
Sulfo-Cy3-E SE (Sulfo-Cy3-E 琥珀酰亚胺酯)	C ₃₅ H ₄₀ KN ₃ O ₁₀ S ₂		深红色固体
Sulfo-Cy5-E SE (Sulfo-Cy5-E 琥珀酰亚胺酯)	C ₃₇ H ₄₂ KN ₃ O ₁₀ S ₂		深蓝色固体
Sulfo-Cy5.5-E SE (Sulfo-Cy5.5-E 琥珀酰亚胺酯)	C ₄₅ H ₄₄ K ₃ N ₃ O ₁₆ S ₄		深蓝色固体
Sulfo-Cy5.5-M SE (Sulfo-Cy5.5-M 琥珀酰亚胺酯)	C ₄₄ H ₄₂ K ₃ N ₃ O ₁₆ S ₄		深蓝色固体
Sulfo-Cy7-E SE (Sulfo-Cy7-E 琥珀酰亚胺酯)	C ₃₉ H ₄₄ KN ₃ O ₁₀ S ₂		深绿色固体

名称	分子式	分子结构图	外观
Sulfo-Cy5 bis-SE (Sulfo-Cy5 双琥珀酰亚胺酯)	$C_{45}H_{51}KN_4O_14S_2$		深蓝色固体
Sulfo-Cy5.5 bis-SE (Sulfo-Cy5.5 双琥珀酰亚胺酯)	$C_{53}H_{53}K_3N_4O_{20}S_4$		深蓝色固体
Sulfo-Cy7 bis-SE (Sulfo-Cy7 双琥珀酰亚胺酯)	$C_{47}H_{53}KN_4O_14S_2$		深蓝色固体

注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 溶解后的 Cy SE 溶液最好立即使用。
- 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。
- 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

- 耗材
超滤管
- 试剂
(1) DMSO
(2) pH 8.3的碳酸氢钠溶液

操作步骤

1. Cy SE 标记蛋白（常规方法）

(1) 制备染料储液

室温复温一管 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，染料需要稀释至更低浓度。

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

(2) 蛋白溶液准备

- 待标记的蛋白溶液 pH 值应为 8.3 ~8.5 之间，若 pH 低于 8.0，推荐使用 1 M 碳酸氢钠进行调整，也可直接使用 pH 8.3 的 0.1 M 碳酸氢钠溶液置换（离心浓缩后重新悬浮）。
- 待标记的蛋白浓度应控制在 2~10 mg/mL 时的标记效果较好，若蛋白浓度低于 2 mg/mL，标记效率会大大降低。注意 pH 在 8.3~8.5 之间。
- 蛋白必须保存在不含伯胺（如 Tris，BSA 或甘氨酸）和铵离子的缓冲

液中，否则会影响标记效率。

注：当进行大规模标记（>100mg 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。

(3) 计算染料用量

Cy SE 染料用量[mg]=8×标记蛋白质量×Cy SE 染料分子量 / 标记蛋白分子量

注：“8”为染料蛋白摩尔比，是一个实验经验值，适用于常规的蛋白、多肽标记。如果标记 DOL 过低或过高，可将比例调整为 5：1、15：1 或 20：1。

(4) 将染料加入蛋白溶液中，轻轻摇匀混合，然后短暂离心将样品收集在反应管底部。切忌剧烈混匀，防止蛋白样品变性失活。

(5) 将反应管置于避光的摇床上，于冰上过夜或在室温下轻轻摇晃孵育 1-2h，每隔 15 min 将反应管轻轻颠倒几次，以充分混合反应物，提高标记效率。

(6) 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，也可以选择超滤或色谱法分离提纯。若是核酸样品，可选择先醇沉初提后色谱法/page 纯化。

(7) 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：

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

- C 是指染料-蛋白共轭物浓度。
- 稀释因子是指在光度测量时的稀释倍数。
- A_{280} 和 A_{max} 分别是指 280 nm 处的吸光度以及在吸收波长处的吸光度。
- 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，稀释倍数需要从起始抗体量以及蛋白液洗脱的总体积来进行预估。

(8) 结合比例（DOL）计算

DOL 通过下式计算：

$$DOL = (A_{max} \times MW \times \text{稀释因子}) / (\epsilon \times C)$$

- A_{max} ，稀释因子，C 值在(7)中已经明确。
- MW 是指蛋白的分子量。
- 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：1) 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。

2) 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。