

Sulfo-Cy5-E Maleimide (磺酸基-Cy5-乙基马来酰亚胺)

产品介绍

花菁染料 Sulfo-Cy5-E 是一种远红外荧光标记染料，该染料具有高度亲水性和水溶性，含有游离的、未活化的单官能团羧酸，而 Sulfo-Cy5-E Maleimide 是 Sulfo-Cy5-E 染料的硫醇反应形式。Maleimide 与硫醇基团反应形成硫醚偶联产物，反应可以在 pH 7 的胺中进行，在中性 pH 环境中，Maleimide 基团不与组氨酸或精氨酸反应。花菁染料是性能优良的荧光染料，摩尔吸光系数在荧光染料中是无可比拟的，其琥珀酰亚胺酯是常用的脂肪氨基标记试剂，广泛用于蛋白、抗体、核酸及其他生物分子的标记和检测，通过改变次甲基链的长度，可改变其荧光发射波长，每增加一个双键，按照 Huoffman 规则正好红移约 100 nm。水溶性菁染料 Cy3 和 Cy5 已成为基因芯片的普遍荧光标记物，另外，Cy5、Cy5.5 和 Cy7 的吸收在近红外区背景非常低，是荧光强度较高、稳定性较好的长波长染料，适合于活体小动物体内成像代替放射性元素。

应用范围

蛋白标记

产品货号

YM0068

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：产品性能稳定，标记效果好；

批间差小：公司自研产品，批间差稳定。

产品组分

组分	YM0068
Sulfo-Cy5-E Maleimide (磺酸基-Cy5-乙基马来酰亚胺)	1 mg

产品参数

外观：可溶于水、DMSO 或 DMF 的黑绿色固体

Ex/Em：646/661 nm

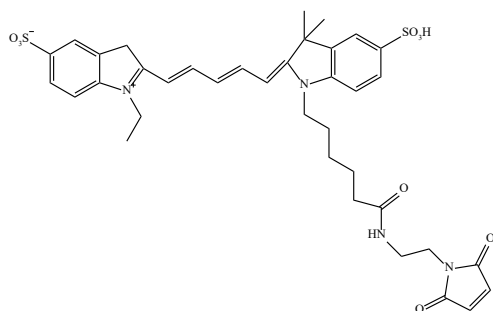
分子式：C₃₉H₄₆N₄O₉S₂

分子量：778.9

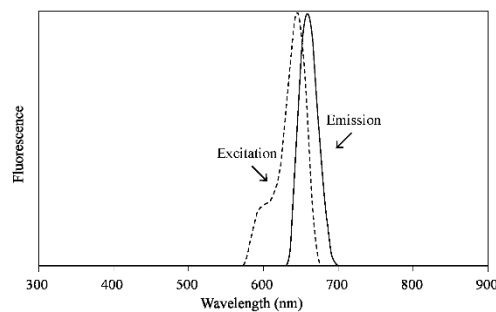
消光系数：271,000

效能等同于：Alexa Fluor 657, TRITC, DyLight 640 等

分子结构图：



光谱图：



注意事项

1. 标记的蛋白如需长期储存，推荐加入 5-10 mg/mL BSA 和 0.05-0.1% ProClin™ 300，以防止蛋白变性和微生物滋生。放置于 4℃ 避光保存。若加入终浓度为 50% 的甘油，可放 -20℃ 稳定保存一年以上。
2. 操作过程注意避光，避免产生气泡。
3. 层析柱装柱时，尽量使柱体均匀，柱面平整，无气泡、裂隙。
4. 上样时注意，当柱顶缓冲液与凝胶平面相切时再加样品，洗脱时，当样品走至与凝胶平面相切时再加洗脱液。
5. 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。
6. 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。
7. 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

1. 耗材

(1) 2 mL 离心管 (2) 超滤管 (3) 葡聚糖凝胶 G-25 透析柱

2. 试剂

(1) PBS (2) 无水 DMSO (3) 还原剂 TCEP 或 DTT

(4) PBS 缓冲液 (pH 7.4) (5) ProClin™ 300 (6) BSA

操作步骤

1. 准备抗体

(1) 在室温下，将抗体溶于缓冲液中，使终浓度为 50~100 μM (IgG 为 7.5~15 mg/mL)。

可选步骤：如果要想蛋白质中的二硫键释放出更多的硫醇基团，则可以在此阶段加入约 10 倍摩尔数的过量的 TCEP。将反应溶液孵育约 30 min。还原反应和随后的标记反应最好在惰性气体 (N₂ 或 Ar) 存在下进行，以防止二硫键重新形成。

2. 准备染料储备液

取出 Sulfo-Cy5-E Maleimide 染料，恢复至室温。制备 10 mM 染料储备液。对于 1 μmol 染料：向小瓶中加入 100 μL 无水 DMSO 即可。短暂涡旋，完全溶解染料，然后进行短时间离心，收集至离心管底部。

注：(1) 如果要用少量的蛋白质进行标记反应，染料储备溶液可能需要稀释至更低浓度，以保证量取体积的准确性。

(2) 未使用的储备液可避光、干燥储存于 -20℃，以备后续使用。如果使用无水 DMSO 制备溶液，染料可稳定至少一个月。

(3) 染料储备溶液也可以用 ddH₂O 或含水缓冲液中制备。因为染料会随着时间的推移而水解，所以水溶性的储备液需要现配现用，不能保存后再使用。

3. 标记反应步骤

(1) 在搅拌或涡旋蛋白质溶液的同时，加入一定量的染料储备溶液，以产生染料、蛋白摩尔比为 10~20 的混合液。例如，对于 50 μM 的 IgG，应添加染料至染料最终浓度为 0.5~1 mM。

(2) 在室温下避光搅拌反应 2 h 或 4℃过夜。

注：进行标记反应的同时，进行步骤 4(1)制备葡聚糖柱。

4. 从反应液中分离标记蛋白

(1) 用 PBS 缓冲液(pH~7.4)平衡葡聚糖凝胶 G-25 透析柱(10 mm×300 mm)。

(2) 将步骤 3(2)中的反应溶液装载到柱上，并用 PBS 缓冲液洗脱柱。从柱中洗脱的第一条带对应于抗体缀合物。

注：对于小规模标记反应，为避免产物过度稀释，可以使用超滤装置去除结合物中游离染料。
10 kDa超滤管可用于IgG蛋白；具有不同分子量的蛋白需要不同的超滤管。

5. 确定 DOL

(1) 确定蛋白浓度

染料标记的抗体浓度可通过以下公式计算：

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

1) C 是指实验收集的 YF 标记的抗体浓度。

2) 稀释因子是指在吸光度测量时的稀释倍数。

3) A_{280} 和 A_{max} 分别是指在 280nm 处的吸光度以及在最大吸收波长 (~647 nm)处的吸光度。

4) C_f 是校正因子，Sulfo-Cy5-E Maleimide 的 C_f 值为 0.13。

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，因此需要稀释到大约 0.1 mg/mL。
稀释倍数（即稀释因子）需要从起始抗体数量（比如 5 mg）以及蛋白液洗脱的总体积进行预估。

(2) DOL 的估算

DOL 通过下式计算：

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

1) A_{max} ，稀释因子，C 值在 5(1)中已经明确；

2) M_{wt} 是指 IgG 的分子量(~150,000)；

3) ϵ 是 Sulfo-Cy5-E Maleimide 的摩尔吸光系数。

相关联产品

产品货号	产品名称
YM0068	Sulfo-Cy5-E Maleimide (磺酸基-Cy5-乙基马来酰亚胺)
T5049	5(6)-TAMRA-C5-maleimide (5(6)-TAMRA-C5-马来酰亚胺)
F5004	Fluorescein-5-maleimide (荧光素-5-马来酰亚胺)
YM0114	YF 555 Maleimide(YF 555-马来酰亚胺)
YM0115	YF 594 Maleimide(YF 594-马来酰亚胺)
YM0116	YF 750 Maleimide(YF 750 马来酰亚胺)
B5042	Biotin-X-C5-maleimide (生物素-X-C5-马来酰亚胺)
P0099	预活化 PE 马来酰亚胺(Preactivated PE Maleimide)
P0100	预活化 APC 马来酰亚胺(Preactivated APC Maleimide)
P0101	预活化 PerCP 马来酰亚胺(Preactivated PerCP Maleimide)