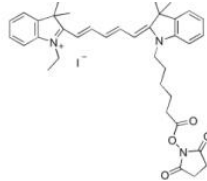


产品组成:

货号	名称	Absmax/Em	A280/Amax or Cf (protein)	Extinction coefficient	Optimal DOL(protein)	MWt
CK0071	Cy5-E SE	646/662 nm	0.05	250,000	4-12	721.7

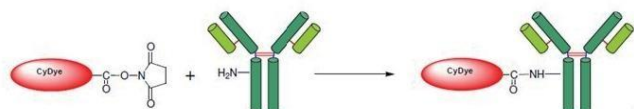
货号	分子式	分子结构图
CK0071	C ₃₇ H ₄₄ IN ₃ O ₄	

储存条件:

-20°C 避光保存, 有效期见外包装。

产品介绍

Cy SE 属于花菁类染料, 可溶于有机溶剂如 DMSO, DMF, 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

使用方法

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° C 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

$$\text{Cy SE 染料用量}[\text{mg}] = 8 \times \text{标记蛋白质量} \times \text{Cy SE 染料分子量} \\ / \text{标记蛋白分子量}$$

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 4 h。

(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：

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

a. 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；

b. 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；

c. 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。

(6) 结合比例 (DOL) 计算

DOL 通过下式计算：

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

a. A_{max}，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。