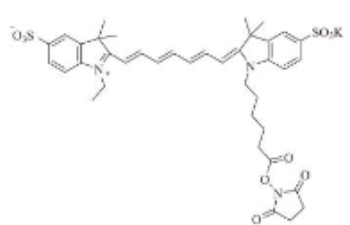


## 产品组成:

货号	名称	Absmax/Em	A280/Amax or Cf (protein)	Extinction coefficient	Optimal DOL(protein)	MWt
CK0079	Sulfo-Cy7-E SE	746/772 nm	0.036	240,600	4-12	818.0

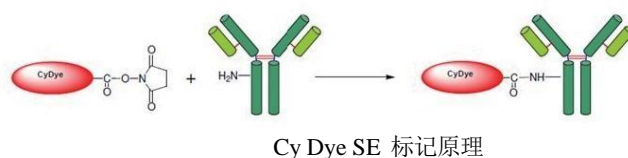
货号	分子式	分子结构图
CK0079	$C_{39}H_{44}KN_3O_{10}S_2$	

## 储存条件:

-20℃避光保存，有效期见外包装。

## 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子的分布。



## 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

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，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；

b. 稀释因子是指在光度测量时的稀释倍数；

c.  $A_{280}$  和  $A_{\text{max}}$  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：

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

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.  $\epsilon$  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。