

GeneF Cy5.5 NHS (Cy5.5-N-羟基琥珀酰亚胺酯)

一、产品简介:

GeneF Cy5.5 NHS (Cy5.5-N-羟基琥珀酰亚胺酯), 水溶性菁染料是性能优良的荧光标记染料, 具有很好的水溶性和很高的摩尔吸光系数, 其琥珀酰亚胺酯是最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。特别是 Cy5.5 和 Cy7 的吸收在近红外区, 已广泛用于活体成像领域来代替放射性元素。在哺乳动物体内血红蛋白是吸收可见光的主要成分, 能吸收中蓝绿光波段的大部分可见光; 水和脂质主要吸收红外线, 因此选择激发和发射光谱位于 650nm-900nm(近红外窗口)的近红外荧光标记的红光虽然有部分散射消耗但大部分可以穿透哺乳动物组织被敏感的 CCD 检测到, 更有利于活体光学成像, 特别是深层组织的荧光成像。

Molecular weight	Excitation (nm)	Emission (nm)	Extinction coefficient (cm-1 M-1)	Quantum yield	Correction factor (280 nm)
~1300	683	703	250000	0.27	0.101

* Measured in phosphate-buffered saline, Mujumdar, R. B., Ernst, L. A., Mujumdar

Cy5.5 NHS 标记 IgG

1. 标记前注意事项:

本标记方案仅供参考, 客户需要根据自己的抗体适当修改。待标记的抗体或蛋白等物质, 不能含有 BSA, gelation, free amino acid and ammonium salt 等。这些杂质参与标记反应, 需要纯化掉这些杂质后才能标记。

2. 标记需要的器材和试剂:

Cy5.5 NHS; IgG 抗体, 1M NaHCO₃ 溶液, PBS 缓冲液 pH=7.2~7.4; 1M NaOH 或者 1M HCl

Sephadex G-25 凝胶层析柱, Bio-Gel P-6 DG Media 聚丙烯酰胺凝胶填料或其它脱盐柱。

3. 将 1mL 10mg/mL IgG 抗体(约 0.0667mM)用 NaHCO₃ 平衡到 pH=8.5~9.5, 然后分四次加入现配现用的 Cy5.5 无水 DMSO 溶液(无水 DMSO 推荐使用 SigmaAldrich 货号 276855), 每次 100uL 每次间隔 10min。 (1mg Cy5.5 NHS 溶在 100uL Sigma 的无水 DMSO 中)

4. 抗体和染料的混合液在常温充分搅拌 2h 后纯化。

5. 用 Sephadex G-25 凝胶层析柱, Bio-Gel P-6 DG Media 聚丙烯酰胺凝胶填料纯化标记后的抗体, PBS 缓冲液 pH=7.2~7.4 作为洗脱液, 收集收集适当的色带峰。

6. 产品冷冻干燥成粉末或在水溶液中, -20℃避光储存; 必要时可用质谱表征。

7. 标记的蛋白稳定性取决于蛋白本身。例如标记的 IgG 在 4℃可避光保存 2 月; 更长期的保存需加入等体积的甘油 -20℃避光保存。

SulfoCy5.5 NHS 标记 (D-ser2)-leucineenkephalin

1. Cy5.5 NHS 1.0 mg 溶解于 400 μL DMSO 后, 加入到 1mL 的玻璃瓶中盛有(D-ser2)-leucine-enkephalin acetate (YSGFLT, 0.75 mg) 的 400 μL DMSO 溶液。(Dye 和 peptide 投料比是 1:1)

2. 然后加入 15 μL 三乙胺, 常温避光搅拌反应混合物过夜。

3. 用 HPLC 纯化蛋白, 使用蛋白 C18 柱子(25 cm×10 mm), 每次上样注入 2×400 μL, 30 分钟梯度洗脱从 0.1% TFA 水溶液到 MeCN : H₂O (0.1% TFA) =70 : 30, 流速 4mL /min。(对不同的蛋白选择不同的合适 HPLC 梯度流动相)

4. 收集适当的色带峰，标记多肽的保留时间比未标记的多肽长。

5. 产品冷冻干燥成粉末或在水溶液中，-20℃避光储存；必要时可用质谱表征。

6. CyDye 标记的蛋白稳定性取决于蛋白本身。例如标记的 IgG 在 4℃可避光保存 2 月；更长期的保存需加入等体积的甘油-20℃避光保存。

二、特别提醒：

1) 本公司所有产品仅限于专业人员用于生命科学研究，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!

2) 本公司所有产品必须由合格专业技术人员操作同时佩戴口罩/手套/实验服并遵守生物实验室安全操作规程!

三、产品参数

Name	GeneF Cy5.5 NHS (Cy5.5-N-羟基琥珀酰亚胺酯)		
CAT#	JXR008-1MGG	CAS#	N/A
Storage#	-20℃ 干燥避光	Shelf Life#	12 个月
Ex(nm)#	673	Em(nm)#	692
MW#	1128.42	Solvent#	Water or DMSO

