

产品说明书

Sulfo-Cy SE (磺酸基-Cy 琥珀酰亚胺酯)

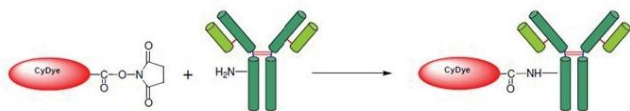
货号	名称	规格	Abs _{max} /Em	A ₂₈₀ /A _{max} or C _f (protein)	Extinction coefficient	Optimal DOL(protein)	MWt
C5060	Sulfo-Cy3-E SE	1 mg	548/565 nm	0.073	250,000	4-12	~766
C5061	Sulfo-Cy5-E SE	1 mg	650/665 nm	0.03	150,000	4-12	~792
C5072	Sulfo-Cy5.5-E SE	1 mg	675/691 nm	0.101	250,000	4-12	~1317.7
C5070	Sulfo-Cy7-E SE	1 mg	745/774 nm	0.036	250,000	4-12	~818
C5079	Sulfo-Cy5.5-M SE	1 mg	673/690 nm	0.101	250,000	4-12	~1528

储存条件

-20°C避光保存，有效期见外包装。

产品介绍

Sulfo-Cy SE 是一种磺酸化的高水溶性的荧光标记染料，可溶于水、DMSO 或 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. Sulfo-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 Sulfo-Cy SE，在管中加入适量无水 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

Sulfo-Cy SE 染料用量[mg] = 8 × 标记蛋白质量 × Sulfo-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 的水解性，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：

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

- 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_{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；
- e. ϵ 则是指蛋白的消光系数。

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. ϵ 是 Sulfo-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。

