

水溶性Cy3-N-羟基琥珀酰亚胺酯

货号: PMK0903

保存: -20°C干燥避光, 有效期12个月。

规格: 1mg

用途: 脂肪氨基标记试剂

产品简介:

菁染料是性能优良的荧光标记染料, 摩尔吸光系数在荧光染料中是最高的, 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。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Hoeffman规则正好红移约100nm。

菁染料Cy3和Cy5已成为基因芯片的首选荧光标记物; 另外, Cy5, Cy5.5和Cy7的吸收在近红外区背景非常低, 是荧光强度最高、最稳定的长波长染料。特别适合于活体小动物体内成像代替放射性元素。

菁染料和生物分子的比例F/P=4~12之间荧光强度最高, F/P值过高荧光探针会自我淬灭并影响生物分子的生物活性, 标记生物分子最好是用单琥珀酰亚胺酯, 但是用双修饰的CyDye NHS并没有发现交联。CyDye NHS标记抗体在pH (8.5~9.4)时10分钟F/P可达5~6, 而在pH 7.0几乎不反应。用不同比例的Cy3标记anti-glutathione-S-transferase (GST)多克隆抗体发现用1:1, 5:1, 10:1 和20:1标记时得到的F/P值分别是0.28:1, 1.16:1, 2.3:1 和4.6:1。

操作步骤:

水溶性SulfoCy3 NHS标记anti-GST多克隆抗体

市场上买到的抗体如果含有其它蛋白或带氨基的缓冲液会影响标记, 在标记前需纯化。

1. 在1L 0.15 M NaCl 溶液中透析anti-GST抗体(浓度为0.5 mL at 3 mg/mL), 常温透析4小时。
2. 在4°C用新鲜的1L 0.15M NaCl 溶液再透析过夜。
3. 第二天用1L 0.1M NaHCO₃(pH 8.3)透析4小时。
4. 用0.22 μm注射器过滤头过滤抗体溶液。
5. 用0.1M NaHCO₃稀释少量的抗体, 在280nm处测其紫外吸收值计算标记抗体的总量(IgG antibody摩尔吸光系数170 000 M⁻¹cm⁻¹at 280nm)。
6. 用无水DMSO配置Cy3 NHS (MW 765.95)溶液浓度为10 mg/mL; 计算所需体积以得到想要的CyDye NHS 和抗体的比值(例如20:1), 然后慢慢将其加入到抗体溶液中, 同时在暗处常温缓慢搅拌45分钟。
7. 用1L 0.15M NaCl 溶液常温避光透析4小时除去未标记上的Cy3。
8. 在4°C用新鲜的1L 0.15M NaCl 溶液再避光透析过夜。
9. 用1L of 0.01M PBS/ 0.01% 叠氮化钠溶液常温避光透析4小时, 在4°C常温避光再次透析过夜。
10. 用0.22 μm注射器过滤头过滤抗体溶液。
11. 用0.01M PBS/0.01 % 叠氮化钠整数倍稀释标记抗体溶液, 测量280nm(蛋白)和552nm(Cy)处的紫外可见吸光度。
12. 产品冷冻干燥成粉末或在0.01M PBS/ 0.01% 叠氮化钠溶液中, -20°C避光储存。

产品说明书

F/P计算:

SulfoCy3 在552nm摩尔吸光系数为150 000 M⁻¹cm⁻¹; 此蛋白在280nm的摩尔吸光系数为170 000 M⁻¹cm⁻¹; 不同蛋白的摩尔吸光系数不一样; Cy3 染料本身在280nm的吸收是552nm处的8%。按以下公式计算F/P值。

$$[Cy3] = A_{552}/150000$$

$$[antibody] = \{A_{280} - (0.08 \times A_{552})\} / 170000$$

$$F/P \text{ final} = [Cy3]/[antibody] = \{1.13 \times A_{552}\} / \{A_{280} - (0.08 \times A_{552})\}$$

相关产品:

PMK1300 考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液

PMK053 GAPDH mAb-HRP conjugated

PMK0312 抗体稀释液

PMK1700 PBST缓冲液

PMK1020 IPTG 溶液 (50mg/ml)

PMK1010 30%丙烯酰胺 (29:1)

PMK1070 5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液

PMK0012 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒



更多产品详情了解，请关注公众号：