

水溶性Cy5.5-N-羟基琥珀酰亚胺酯

货号: PMK0911

保存: -20°C干燥避光, 有效期12个月。

规格: 1mg

用途: 用于蛋白、抗体、核酸及其他生物分子的标记和检测。

产品简介:

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。

操作步骤:

Cy5.5 NHS标记IgG

1. 标记前注意事项: 本标记方案仅供参考, 使用时请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, 每次100uL每次间隔10min。(1mg Cy5.5 NHS溶于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°C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°C可避光保存2月; 更长期的保存需加入等体积的甘油-20°C避光保存。

Cy5.5 NHS标记 (D-ser2)-leucine-enkephalin

1. Cy5.5 NHS 1.0 mg 溶解于400 μ L DMSO后, 加入到1mL 的玻璃瓶中盛有(D-ser2)-leucine-enkephalin acetate (YSGFLT, 0.75 mg) 的400 μ L DMSO溶液。(Dye 和peptide 投料比是 1:1)
2. 然后加入15 μ L三乙胺, 常温避光搅拌反应混合物过夜。

产品说明书

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。

F/P计算：

Cy5.5在678 nm的摩尔吸光系数为250 000 M⁻¹cm⁻¹，所用蛋白在280 nm处的摩尔吸光系数为170000 M⁻¹cm⁻¹；Cy5.5在280nm处的吸收是695nm处的18%。按以下公式计算F/P值。

$$[\text{Cy5.5 dye}] = (A_{678}) / 250\,000$$

$$[\text{peptide}] = [A_{280} - (0.18 \times A_{678})] / 170\,000$$

$$\text{F/P final} = [\text{dye}] / [\text{peptide}]$$

$$\text{F/P final} = \{0.68 \times A_{678}\} / \{A_{280} - (0.18 \times A_{678})\}$$

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：