

## Product Manual

### 产品说明书

#### 产品信息

产品货号	产品名称
PR01377	Cy3-乙基 琥珀酰亚胺酯 (橙红色)
PR01379	Cy3.5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (红色)
PR01382	Cy5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)
PR01383	Cy5.5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)
PR01384	Cy5.5-甲基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)
PR01386	Cy7-乙基 琥珀酰亚胺酯 (近红外)
PR01389	磺酸基-Cy3-乙基 琥珀酰亚胺酯 (橙红色)
PR01393	磺酸基-Cy5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)
PR01396	磺酸基-Cy5.5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)
PR01399	磺酸基-Cy7-乙基 琥珀酰亚胺酯 (近红外)
PR01395	磺酸基-Cy5 双琥珀酰亚胺酯 (远红外)
PR01398	磺酸基-Cy5.5 双琥珀酰亚胺酯 (远红外)
PR01401	磺酸基-Cy7 双琥珀酰亚胺酯 (近红外)

#### 产品介绍

Cy 系列属于花菁类染料, 其中 Cy 甲基、乙基 是非水溶性形式, 磺酸基-Cy 乙基是磺酸化的高水溶性形式, 两者属于单反应性染料。它们可溶于有机溶剂如 DMSO、DMF 等, 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。检测原理见图 1。

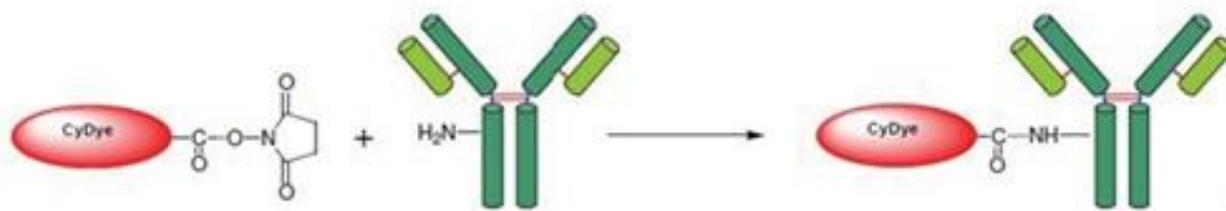


图 1 Cy 琥珀酰亚胺酯 标记原理

#### 应用范围

蛋白标记、寡核苷酸标记、多肽小分子标记

#### 储运条件

-20 °C 避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

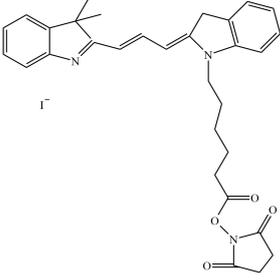
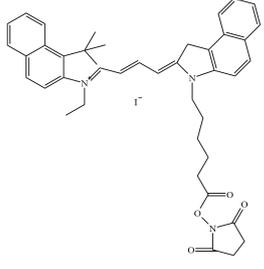
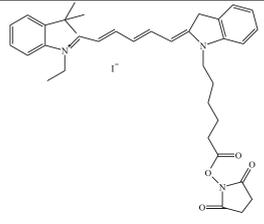
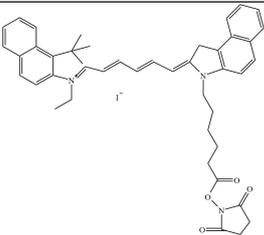
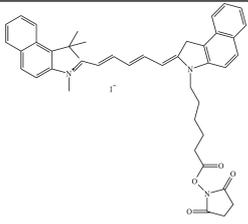
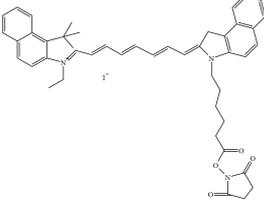
#### 产品特点

**稳定性强:** 荧光亮度高且抗淬灭性好;

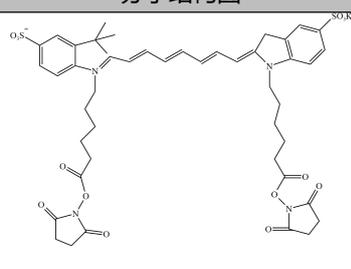
**批间差小:** 产品为公司自研, 批间差控制的好;

**选择灵活:** 提供多种颜色 Cy-SE 染料, 选择灵活方便。

### 产品参数

名称	分子式	分子结构图	外观颜色
Cy3-乙基 琥珀酰亚胺酯 (橙红色)	C35H42IN3O4		红色固体
Cy3.5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (红色)	C43H46IN3O4		紫红色固体
Cy5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)	C37H44IN3O4		蓝色固体
Cy5.5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)	C45H48IN3O4		深蓝色固体
Cy5.5-甲基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)	C44H46IN3O4		深蓝色固体
Cy7-乙基 琥珀酰亚胺酯 (近红外)	C39H46IN3O4		绿色固体

名称	分子式	分子结构图	外观颜色
磺酸基-Cy3-乙基 琥珀酰亚胺酯 (橙红色)	C35H40KN3O10S2		深红色固体
磺酸基-Cy5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)	C37H42KN3O10S2		深蓝色固体
磺酸基-Cy5.5-乙基 琥珀酰亚胺酯 (远红外)	C45H44K3N3O16S4		深蓝色固体
磺酸基-Cy7-乙基 琥珀酰亚胺酯 (近红外)	C39H44KN3O10S2		深绿色固体
磺酸基-Cy5 双琥珀酰亚胺酯 (远红外)	C45H51KN4O14S2		深蓝色固体
磺酸基-Cy5.5 双琥珀酰亚胺酯 (远红外)	C53H53K3N4O20S4		深蓝色固体

名称	分子式	分子结构图	外观颜色
磺酸基-Cy7 双琥珀酰亚胺酯 (近红外)	C <sub>47</sub> H <sub>53</sub> KN <sub>4</sub> O <sub>14</sub> S <sub>2</sub>		深蓝色固体

## 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.本产品仅限于科研, 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内。
- 4.为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 自备材料

- 1.耗材  
超滤管
- 2.试剂  
(1) DMSO (2) pH = 8.3 的碳酸氢钠溶液

## 操作步骤

### 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。**

#### 计算染料用量

(2) 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”为染料蛋白摩尔比, 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:

$$C (\text{mg/mL}) = \{[A_{280} - (A_{\text{max}} \times Cf)] / 1.4\} \times \text{稀释因子}$$

- 1) C 是指染料-蛋白共轭物浓度。
- 2) 稀释因子是指在光度测量时的稀释倍数。
- 3) A<sub>280</sub> 和 A<sub>max</sub> 分别是指在 280 nm 处的吸光度以及在吸收波长处的吸光度。
- 4) Cf 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：

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

- 1)  $A_{max}$ , 稀释因子, C 值在 (6) 中已经明确。
- 2) Mwt 是指蛋白的分子量。
- 3)  $\epsilon$  是 Cy SE 的消光系数。
- 4) 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 琥珀酰亚胺酯 或 Cy 琥珀酰亚胺酯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：(1)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。**

**(2)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。**