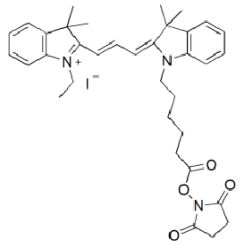
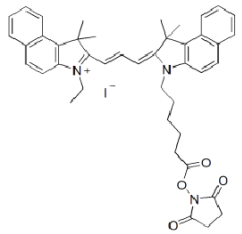
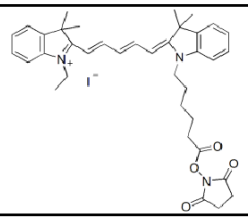
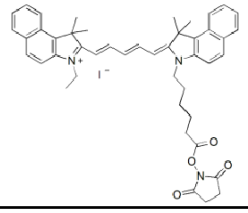
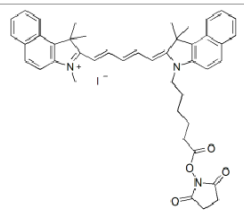
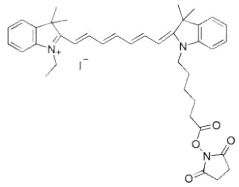
产 品 说 明 书

Cy SE（Cy 琥珀酰亚胺酯）

货号	名称	Abs_{max}/Em	A_{280}/A_{max} or C_f (protein)	Extinction coefficient	Optimal DOL(protein)	MWt
SB-C5077	Cy3-E SE	548/565 nm	0.09	150,000	4-12	695.6
SB-C5078	Cy3.5-E SE	587/604 nm	0.22	116,000	4-12	795.8
SB-C5045	Cy5-E SE	646/662 nm	0.05	250,000	4-12	721.7
SB-C5076	Cy5.5-E SE	675/690 nm	0.03	198,000	4-12	821.8
SB-C5083	Cy5.5-M SE	675/690 nm	0.03	198,000	4-12	807.8
SB-C5046	Cy7-E SE	745/774 nm	0.029	199,000	4-12	747.7

货号	分子式	分子结构图
SB-C5077	$C_{35}H_{42}IN_3O_4$	
SB-C5078	$C_{43}H_{46}IN_3O_4$	
SB-C5045	$C_{37}H_{44}IN_3O_4$	
SB-C5076	$C_{45}H_{48}IN_3O_4$	

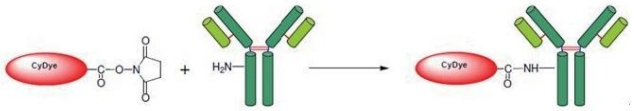
SB-C5083	$C_{44}H_{46}IN_3O_4$	
SB-C5046	$C_{39}H_{46}IN_3O_4$	

储存条件

-20℃避光保存，有效期见外包装。

产品介绍

Cy SE 是一种近红外荧光标记染料，可溶于有机溶剂如 DMSO，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. 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。

（2）计算染料用量

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，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：

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

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；

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：

$$DOL = (Amax \times Mwt \times 稀释因子)/(\varepsilon \times C)$$

a. Amax，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 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。