

水溶性Cy5.5

货号: PMK0910

保存: -20°C干燥避光保存, 有效期12个月。

规格: 5mg

用途: 广泛用于蛋白、抗体、核酸及其他生物分子的标记和检测

产品简介:

Cy5.5 是一种 CY 染料。CY 为花菁 (Cyanine) 的缩写, 是由奇数个甲基单位连接的两个氮原子组成的化合物。菁类化合物具有波长长、吸收和发射可调、消光系数高、水溶性好、合成相对简单等特点。CY 系类染料常被用于蛋白, 抗体以及小分子化合物的标记, 对于蛋白抗体的标记, 可以通过简单的混合反应来完成结合, 以下我们介绍了蛋白抗体标记的标记方法, 具有一定的参考意义。

操作步骤:

原液制备

1. 蛋白准备

为了获得最佳标记效果, 请将蛋白 (抗体) 浓度配制为 2 mg/mL。

- 1) 蛋白溶液 pH 值应为 8.5 ± 0.5 , 若 pH 低于 8.0, 则用 1 M 碳酸氢钠进行调整。
- 2) 若蛋白浓度低于 2 mg/mL, 标记效率会大大降低, 为了获得最佳标记效率, 建议最终蛋白质浓度范围为 2-10 mg/mL。
- 3) 蛋白必须在不含伯胺 (如 Tris 或甘氨酸) 和铵离子的缓冲液中, 否则会影响标记效率。

2. 染料准备

将无水 DMSO 稀释 CY 染料, 制成 10 mM 储备溶液。通过玻璃管或旋涡充分混合。

注: CY 储存液建议分装后于 -20 °C 或 -80 °C 避光保存。

3. 染料工作液用量计算

标记反应所需的 CY 染料用量取决于要标记蛋白的用量, CY 染料与蛋白的最佳摩尔比为 10 左右。

例: 假如所需标记蛋白为 500 μ L 2 mg/mL 的 IgG (MW=150,000), 用 100 μ L DMSO 溶解一管 1 mg CY 染料, 则所需 CY 体积为 3.95 μ L, 详细计算流程如下 (以 CY3-NHS ester 为例):

$$1) \text{ mmol (IgG)} = \text{mg/mL (IgG)} \times \text{mL (IgG)} / \text{MW (IgG)} = 2 \text{ mg/mL} \times 0.5 \text{ mL} / 150,000 \text{ mg/mmol} = 6.7 \times 10^{-6} \text{ mmol}$$

$$2) \text{ mmol (CY3-NHS ester)} = \text{mmol (IgG)} \times 10 = 6.7 \times 10^{-6} \text{ mmol} \times 10 = 6.7 \times 10^{-5} \text{ mmol}$$

$$3) \mu\text{L (CY3-NHS ester)} = \text{mmol (CY3-NHS ester)} \times \text{MW (CY3-NHS ester)} / \text{mg}/\mu\text{L (CY3-NHS ester)} = 6.7 \times 10^{-5} \text{ mmol} \times 590.15 \text{ mg/mmol} / 0.01 \text{ mg}/\mu\text{L} = 3.95 \mu\text{L (CY3-NHS ester)}$$

使用方法

1. 标记反应

- 1) 取算好体积的新鲜配制的 10 mg/mL CY 染料缓慢加入到 0.5 mL 蛋白样品溶液中, 轻轻摇匀混合, 然后短暂离心将样品收集在反应管底部。切忌剧烈混匀, 防止蛋白样品变性失活。

产品说明书

2) 将该反应小管置于避光处, 在室温条件下轻轻摇晃孵育 60 分钟, 每隔 10 - 15 分钟, 将反应小管轻轻颠倒几次, 以充分混合两种反应物, 提高标记效率。

2. 蛋白纯化脱盐

以下方案是使用 SepHadex G-25 柱纯化染料蛋白偶联物为例。

- 1) 按照生产说明书制备 SepHadex G-25 柱。
- 2) 将反应混合物装入 SepHadex G-25 色谱柱顶部。
- 3) 当样品运行到顶部树脂表面下方时, 立即加入 PBS (pH 7.2-7.4)。
- 4) 向所需样品中加入更多的 PBS (pH 7.2-7.4), 完成柱纯化。结合含有所需要的染料-蛋白质缀合物的组分。

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: