

Cy5 NHS Ester Cy5-N-羟基琥珀酰亚胺酯

产品简介

Cyanine 5 (Cy5)，是花青素荧光染料家族的一员，是化学合成的聚甲炔染料。目前 Cyanine 系列染料以两种异构体的形式供货，一种是非磺化花青素 (non-sulfonated cyanines)，一种是磺化花青素 (sulfonated cyanine)。两者的光谱性质几乎一致，因此大部分应用可相互替换，比如，都可用于标记 DNA 或蛋白等生物分子。两者的主要区别在于：磺化染料是水溶性的，在水相的标记反应体系内不需要使用有机共溶剂，并且降低染料在水中聚集的可能性，增强标记效率。

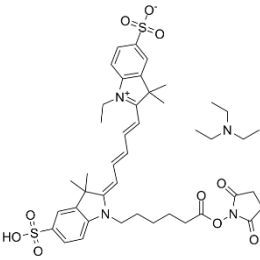
本 Cyanine 5 (Cy5) 是以磺化染料的形式供货，易溶于水，Ex=649 nm，Em=670 nm，具有明亮荧光，光稳定性强，pH 非敏感性等优点，适用于标记多肽、蛋白以及核酸等生物分子，以通过后续荧光成像以及其他荧光生物学方法分析目的蛋白。

本 Cy5 NHS ester，即含 N-羟基琥珀酰亚胺 (N-Hydroxysuccinimide) 活化基团的 Cy5，可直接与生化分子上的氨基 (-NH₂) 反应形成稳定的酰胺键，主要是伯胺。

产品信息

货号	40795ES03
规格	1 mg

产品性质

英文别名 (English Synonym)	Cyanine 5, monosuccinimidyl ester
分子量 (Molecular Weight)	855.07
外观 (Appearance)	紫色到紫红色粉末
Ex/Em	649 nm/670 nm
溶解性 (Solubility)	溶于 DMSO, DMF, 水
纯度 (Purity)	≥95%
结构式 (Structure)	

储存条件

-15~-25°C干燥避光保存，有效期 1 年。

使用方法

以下实验方法仅供参考，请客户根据文献进行调整。

1. 准备蛋白储备液 (Solution A)

将 100 μ L 的反应缓冲液（例如，1 M 碳酸钠溶液或 1 M PBS 缓冲液，pH 9.0）与 900 μ L 的目标蛋白质溶液（例如，抗体。若蛋白质浓度 > 2 mg/mL 可达到更好的效果）混合，得到 1 mL 的蛋白质标记储备溶液。

注意：蛋白质溶液（Solution A）的 pH 值应为 8.5 ± 0.5 。如果蛋白质溶液的 pH 值低于 8.0，使用 1 M 碳酸氢钠溶液或 1 M pH 9.0 磷酸盐缓冲液将 pH 值调整到 8.0-9.0 的范围。如果蛋白质溶解在 Tris 或甘氨酸缓冲液中，则必须在 1 $\times$ PBS（pH 7.2-7.4）中透析，去除用于蛋白质沉淀的游离胺或铵盐（如硫酸铵和醋酸铵）。若含有牛血清白蛋白（BSA）或明胶等物质，抗体将无法很好地标记。钠叠氮化物或硫柳汞的存在也可能干扰结合反应。可以通过透析等方式去除钠叠氮化物或硫柳汞，以获得最佳的标记结果。如果蛋白质浓度低于 2 mg/mL，结合效率会显著降低。为了获得最佳的标记效率，建议最终蛋白质浓度范围为 2-10 mg/mL。

2. 准备 Cy5 NHS Ester 储备液（Solution B）

将无水 DMSO 加入到 Cy5 NHS Ester 小瓶中，制成 10 mM 的储备溶液。通过移液器或涡旋混合均匀。

注意：Cy5 NHS Ester 储备液尽量现配现用。储备液配置完成请尽快使用。储备液的长期储存可能会降低染料活性。Solution B 可以在避光和防潮的情况下在冰箱中储存两周。避免反复冻融循环。

3. 将 Solution B（染料）和 Solution A（蛋白质）以 10: 1 的摩尔比混合。如 Solution B 为 10 mM，将 5 μ L 的 Solution B 加入到含有 95 μ L Solution A 的瓶中，并摇动混合。注意：可根据客户使用情况对储备液的比例进行调整。

4. 在室温下继续旋转或摇动反应混合物 30-60 分钟。

5. 将反应混合物上样到 1.5 mL Sephadex G-25 柱上，并通过离心洗脱 Cy5 染料结合的蛋白。

注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 本产品仅作科研用途！