上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

产品名称：CY5.5-N-羟基琥珀酰亚胺酯；Cy5.5-SE

CAS 号：442912-55-2

产品货号：T25602

生物活性：	
Description	Cy5.5-SE (Cyanine5.5 NHS ester) 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。储存方式：避光。
In Vitro	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 ℃ 或 -80 ℃ 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 μL 2 mg/mL 的 IgG (MW=150,000),用 100 μL DMSO 溶解一管 1 mg CY 染料，则所需 CY 体积为 3.95 μL，详细计算流程如下 (以 Cy5.5-SE 为例) ： 1) mmol (IgG) = mg/mL (IgG) ×mL (IgG) / MW (IgG) =2 mg/mL×0.5 mL / 150,000 mg/mmol= 6.7×10-6 mmol 2) mmol (Cy5.5-SE) = mmol (IgG) ×10 =6.7×10-6 mmol×10 = 6.7×10-5 mmol 3) μL (Cy5.5-SE) = mmol (Cy5.5-SE) ×MW (Cy5.5-SE) / mg/ μL (Cy5.5-SE) = 6.7×10-5 mmol×590.15 mg/mmol / 0.01 mg/ μL =3.95 μL (Cy5.5-SE) 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。 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。
In Vivo	Cy5.5 标记的因子 VIIa 是为肿瘤成像而开发的。用这些靶向蛋白标记的 Cy5.5 特异性定位于肿瘤异种移植物至少 14 天，但未结合的 Cy5.5 不定位于任何异种移植物或器官。这种对肿瘤 VEC 中

上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

	的抗组织因子进行成像的方法可用于检测原发性肿瘤和转移灶，以及监测体内治疗反应[1]。与 Cy5.5 标记的乳铁蛋白结合的 pH/温度敏感磁性纳米凝胶（Cy5.5-Lf-MPNA 纳米凝胶）被开发为胶质瘤术前 MRI 和术中荧光成像的有前途的造影剂[2]。
Solvent&Solubility	**细胞实验:** DMSO 中的溶解度 ：100 mg/mL (98.61 mM; 超声助溶; 吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响，请使用新开封的 DMSO)

Preparing Stock Solutions	Solvent / Mass / Concentration	**1 mg**	**5 mg**	**10 mg**
	1 mM	0.9861 mL	4.9303 mL	9.8607 mL
	5 mM	0.1972 mL	0.9861 mL	1.9721 mL
	10 mM	0.0986 mL	0.4930 mL	0.9861 mL

*请根据产品在不同溶剂中的溶解度选择合适的溶剂配制储备液；一旦配成溶液，请分装保存，避免反复冻融造成的产品失效。

储备液的保存方式和期限：-80°C, 6 months; -20°C, 1 month (sealed storage, away from moisture and light)。-80°C 储存时，请在 6 个月内使用，-20°C 储存时，请在 1 个月内使用。

参考文献

[1]. Zhu S, et al. Visualizing cancer and response to therapy in vivo using Cy5.5-labeled factor VIIa and anti-tissue factor antibody. J Drug Target. 2015 Apr;23(3):257-65.

[2]. Ptaszek M. Rational design of fluorophores for in vivo applications. Prog Mol Biol Transl Sci. 2013;113:59-108.

[3]. Shindy, H. A. (2017). Fundamentals in the chemistry of cyanine dyes: A review. Dyes and Pigments, 145, 505–513. doi:10.1016/j.dyepig.2017.06.029

[4]. Jiang L, et al. pH/temperature sensitive magnetic nanogels conjugated with Cy5.5-labled lactoferrin for MR and fluorescence imaging of glioma in rats. Biomaterials. 2013 Oct;34(30):7418-28.　[5]. Lim B, et al. A Unique Recombinant Fluoroprobe Targeting Activated Platelets Allows In Vivo Detection of Arterial Thrombosis and Pulmonary Embolism Using a Novel Three-Dimensional Fluorescence Emission Computed Tomography (FLECT) Technology. Theranostics. 2017 Feb 26;7(5):1047-1061.

完整储备液配制表：

请根据产品在不同溶剂中的溶解度选择合适的溶剂配制储备液；一旦配成溶液，请分装保存，避免反复冻融造成的产品失效。

储备液的保存方式和期限：-80° C, 6 months; -20° C, 1 month (sealed storage, away from moisture and light)。-80° C 储存时，请在 6 个月内使用，-20° C 储存时，请在 1 个月内使用。

可选溶剂	**质量 / 溶剂体积 / 浓度**	**1 mg**	**5 mg**	**10 mg**	**25 mg**
DMSO	**1 mM**	0.9861 mL	4.9303 mL	9.8607 mL	24.6517 mL
	5 mM	0.1972 mL	0.9861 mL	1.9721 mL	4.9303 mL
	10 mM	0.0986 mL	0.4930 mL	0.9861 mL	2.4652 mL
	15 mM	0.0657 mL	0.3287 mL	0.6574 mL	1.6434 mL
	20 mM	0.0493 mL	0.2465 mL	0.4930 mL	1.2326 mL

上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

	25 mM	0.0394 mL	0.1972 mL	0.3944 mL	0.9861 mL
	30 mM	0.0329 mL	0.1643 mL	0.3287 mL	0.8217 mL
	40 mM	0.0247 mL	0.1233 mL	0.2465 mL	0.6163 mL
	50 mM	0.0197 mL	0.0986 mL	0.1972 mL	0.4930 mL
	60 mM	0.0164 mL	0.0822 mL	0.1643 mL	0.4109 mL
	80 mM	0.0123 mL	0.0616 mL	0.1233 mL	0.3081 mL