

PerCP-Cy5.5 说明书

产品信息

产品货号	产品名称	规格	技术指标
QH-50-5008	PerCP-Cy5.5	10 mg/25 mg/100 mg/1 g	$A_{482}/A_{280} > 4.0$ $A_{620}/A_{482} < 0.005$

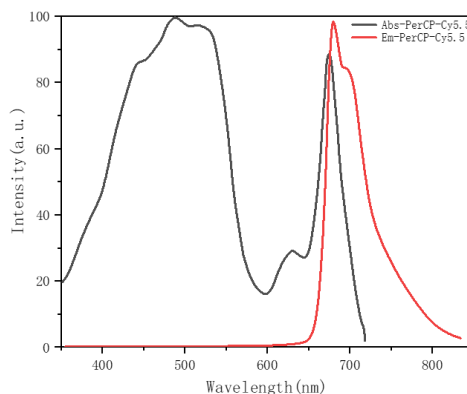
产品简介

PerCP (Peridinin-Chlorophyll-Protein Complex) 是从甲藻纲植物中分离出来的多甲藻素-叶绿素-蛋白质复合物，分子量为 35.5 kDa，具有极高的消光系数、高量子效率和大 Stokes 位移。它具有较宽的激发光谱，主峰在 482 nm 处，发射最高峰在 677 nm 处。PerCP 及其偶联物是适用于细胞表面标记技术（如流式细胞术）的大型复合物。PerCP-Cy5.5 是一种稳定的 488 nm 激光激发的串联染料。PerCP-Cy5.5 可以染色低丰度靶标。在多色流式细胞仪中，通常可以稳定的检测到 Cy5.5 信号。在双激光管仪器上与 APC 共同检测时，需要做补偿调节，但比 PerCP 补偿少。

产品性质

纯度： $A_{482}/A_{280} > 4.2$

形态：粉末



运输及储存

储存条件：2-8°C 避光保存，勿冷冻

稳定性：在适宜条件下至少可以储存 12 个月

使用方法

1. 抗体的修饰

- 抗体修饰试剂 (DTT/TCEP) 溶解于 ddH₂O 配制成 2 mg/ml 的抗体修饰液；
- 取待标记抗体 (纯度>90%)，用 PBS 缓冲液调整浓度到 5-10 mg/ml 左右，按照每 mg 抗体加入 10 μl 抗体修饰液，轻轻混匀，在室温下搅拌反应 60-90 分钟；
- 反应完成后，转移到超滤管内芯，并添加 MES 缓冲液，通过超滤管多次离心置换溶液去除多余抗体修饰试剂，超滤管内芯收集液为修饰完成的抗体，并调节浓度至 1-5 mg/ml。

2. PerCP-Cy5.5 串联染料活化

- PerCP-Cy5.5 串联染料用 0.1 M PBS (pH=7.4, 5 mM EDTA) 溶解，浓度为 5-10 mg/ml;
- 将 SMCC 溶解于无水二甲基亚砷 (DMSO) 配制成 10 mg/ml 的母液;
- 每 mg 的 PerCP-Cy5.5 串联染料添加 18 μ l 的 SMCC ($n(\text{PerCP-Cy5.5}): n(\text{SMCC})=1:20$)，铝箔封好后于室温旋转反应 1h，使 PerCP-Cy5.5 串联染料分子上的氨基与琥珀酰胺反应生成衍生化的 PerCP-Cy5.5 串联染料;
- 反应完成后，将反应液移至超滤离心管内，于 4℃、5 min、12000g 下离心并除去滤液，再加入 500 μ l MES 缓冲液混匀离心；重复此操作 5 次;
- 收集活化的 PerCP-Cy5.5 串联染料溶液。

3. 活化的 PerCP-Cy5.5 与抗体偶联

- 用 MES 缓冲液将活化的 PerCP-Cy5.5 浓度调整为 5 mg/ml；为了获得 PerCP-Cy5.5 的精确重量，我们建议使用 PerCP 的消光系数作为测量（即 $[\text{PerCP-Cy5.5}] = 0.086 \times A_{482}$ ，其中 $[\text{PerCP-Cy5.5}]$ 是以 mg/ml 为单位的浓度， A_{482} 为波长为 482 nm 时的吸光值，且控制范围在 0.3~0.8 即可）;
- 将修饰抗体与活化的 PerCP-Cy5.5 按照质量比 2.25:1 比例（每 mg 修饰抗体对应 0.45 mg 活化 PerCP-Cy5.5）混合，室温避光反应 2 小时;
- 将 NEM 溶解于无水二甲基亚砷 (DMSO) 配制成 12.5 mg/ml 溶液 (0.1M)，按照每毫克抗体 5 μ l 的体积 NEM 溶液加入步骤 b 反应产物中，封闭未反应完的活性基团;
- 将步骤 c 溶液加入超滤管通过反复离心去除封闭试剂等;
- 标记好的抗体分装，加入适当保护剂，-20 °C 保存备用（避免反复冻融）。

注意事项

- PerCP-Cy5.5 需要避光低温保存，标记过程尽量保证其避光;
- 封闭剂与修饰剂需现用现配，不能长期保存;
- 标记的抗体特异性要高，纯度不低于 90%，最好使用单克隆抗体，溶液环境不含游离氨基，最好为 PBS 溶液；标记前抗体需去除 NaN_3 和 BSA，抗体的透析、浓缩和浓度测定等操作都会造成抗体量的损失，因此标记前准备抗体时需根据具体情况考虑最适的抗体量;
- 由于抗体修饰后所带的基团容易被重新氧化，因此修饰后抗体需尽快与活化的 PerCP-Cy5.5 进行偶联。