

RPE 串联染料产品说明书

产品信息

产品货号	产品名称	规格	激发/发射波长
QH-50-5006	PE-Cy5	10 mg/25 mg/100 mg/1 g	565 nm /667 nm
QH-50-5005	PE-Cy5.5	10 mg/25 mg/100 mg/1 g	565 nm /694 nm
QH-50-5005	PE-Cy7	10 mg/25 mg/100 mg/1 g	565 nm/785 nm

产品简介

PE-花菁染料是一种藻红蛋白偶联物，在此类串联染料中，激发能量能从 PE 传递到花菁染料上，最大发射波长为花菁染料波长。

PE-Cy5 与 FITC、PE 在光谱上重叠范围小，荧光干扰少，因此实验中常将 PE-Cy5 与 FITC、PE 搭配使用。需注意，PE-Cy5 不适合与 APC 搭配使用，两者的光谱重叠范围大。

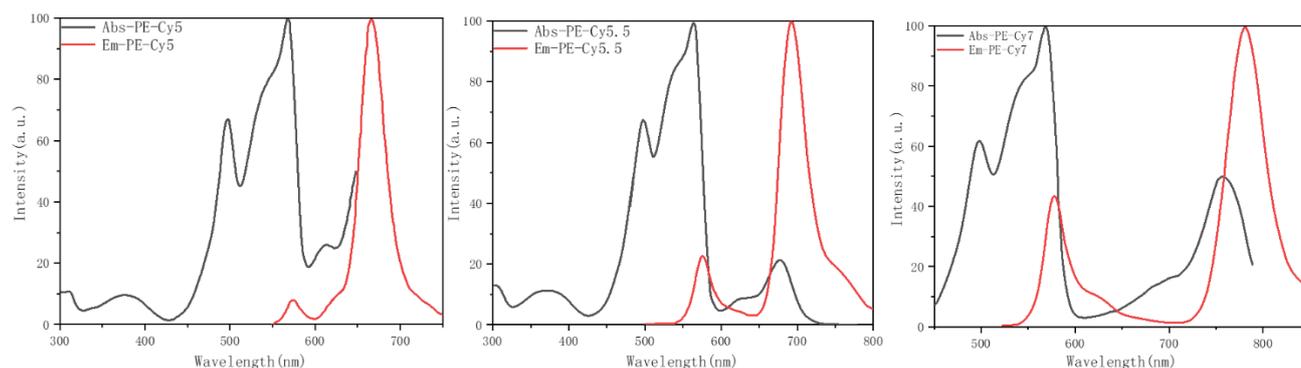
与 PE-Cy5 不同，PE-Cy5.5 与 FITC、PE、APC 间荧光干扰小，可搭配使用，且其荧光强度要优于 PE-Cy5。

PE-Cy7 与 FITC 无光谱重叠，与 APC 重叠也较少，因此其可与 FITC、PE、APC 搭配使用。在实验中需要注意，PE-Cy7 的光淬灭性很强，需要绝对避光环境。

产品性质

纯度: $A_{\max}/A_{280} > 5.0$

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。

b) 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 μ l 抗体修饰液，轻轻混匀，在室温下搅拌反应 60-90 分钟。

c) 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. PE-花菁串联染料活化

a) PE-花菁串联染料用 0.1 M PBS (Ph=7.4, 5 mM EDTA) 溶解，浓度 5-10 mg/ml。

b) 将 SMCC 溶解于无水二甲基亚砷（DMSO）配制成 10 mg/ml 的母液。

c) 每 mg 的 PE-花菁串联染料添加 11 μ l 的 SMCC（n(PE-花菁串联染料): n(SMCC)=1:80），铝箔封好后于室温旋转反应 1h，使 PE-花菁串联染料分子上的氨基与琥珀酰胺反应生成衍生化的 PE-花菁串联染料。

d) 反应完成后，将反应液移至超滤离心管内，于 4 $^{\circ}$ C、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。

e) 收集活化的 PE-花菁串联染料溶液。

3. 活化 PE-花菁串联染料与抗体偶联

a) 用 MES 缓冲液将活化 PE-花菁串联染料浓度调整为 5 mg/ml；为了获得 PE-花菁串联染料的精确重量，我们建议使用 R-PE 的消光系数作为测量（即[PE-花菁串联染料] = 0.12245 \times A₅₆₅，其中[PE-花菁串联染料]是以 mg/ml 为单位的浓度，A₅₆₅为波长为 565 nm 时的吸光值，且控制范围在 0.3~0.8 即可）。

b) 将修饰抗体与活化的 PE-花菁串联染料按照质量比 1:3 比例（每 mg 修饰抗体对应 3 mg PE-花菁串联染料）混合，室温避光反应 2 小时。

c) 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。

d) 将步骤 c 溶液加入超滤管通过反复离心去除封闭试剂等。

e) 标记好的抗体分装，加入适当保护剂，-20 $^{\circ}$ C 保存备用（避免反复冻融）。

注意事项

- PE 串联染料需要避光低温保存，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 NaN₃ 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偶联。