

PerCP-Cy5.5 串联染料产品说明书

产品信息

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

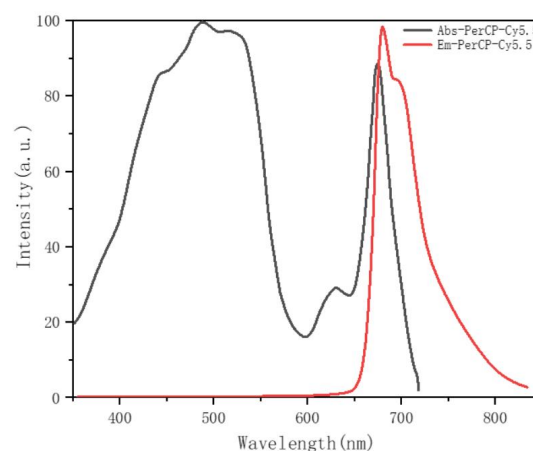
产品描述

PerCP (Peridinin-Chlorophyll-Protein Complex) 是从甲藻纲植物中分离的多甲藻素-叶绿素-蛋白质复合物，分子量为 35.5 kDa，具备高消光系数、高量子效率及大 Stokes 位移的天然光学特性。其激发光谱范围宽，主激发峰位于 488 nm，发射峰最高值达 677 nm，是适用于细胞表面标记（如流式细胞术）的大分子复合物。Cy5.5 作为远红外荧光染料，通过能量转移协同增强 PerCP 的荧光信号强度，形成稳定的 488 nm 激光激发串联染料——PerCP-Cy5.5。该复合物可显著提升低丰度靶标检出灵敏度，其 Cy5.5 组分在多色流式系统中发射信号稳定；在双激光管仪器上与 APC 联用时，补偿调节需求显著低于传统 PerCP。

【产品性质】

纯度： $A_{482}/A_{280}>4.2$

形态：溶液



【运输及储存】

储存条件：2-8℃ 避光保存，勿冷冻

稳定性：在适宜条件下至少可以储存 6 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 μL 的 SMCC (n(PerCP-Cy5.5): n(SMCC)=1:20)，铝箔封好后于室温旋转反应 1 h，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 μL 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 μL 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 ℃ 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。