

RPE 串联染料产品说明书

产品信息

产品货号	产品名称	规格	Ex/Em (nm)
QH-50-5005	RPE-Cy5.5	1mg/10mg/100mg/1g	565/694
QH-50-5006	RPE-Cy5	1mg/10mg/100mg/1g	565/667
QH-50-5007	RPE-Cy7	1mg/10mg/100mg/1g	565/785

产品描述

PE-Cy5 属于藻胆蛋白缀合物家族的串联染料，其工作原理为激发能量从 PE 向 Cy5 发生高效转移，最大发射波长位于 Cy5 特征波段（~670 nm）。该染料与 FITC 和 PE 的光谱重叠极低，在多色实验中可有效降低荧光干扰，因此兼容 FITC 与 PE 的联合检测方案。需注意：PE-Cy5 不可与 APC 联用，二者存在显著光谱重叠。

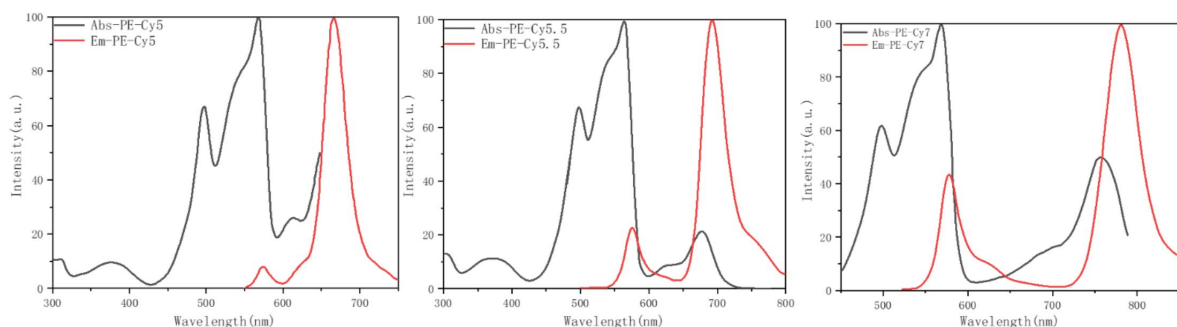
相较于 PE-Cy5，PE-Cy5.5 对 FITC、PE 及 APC 的荧光干扰均降至可忽略水平，支持与上述染料的自由组合应用；同时，其荧光强度显著高于 PE-Cy5。

PE-Cy7 则具备零 FITC 光谱重叠特性，与 APC 的重叠度极低，可无缝整合至含 FITC/PE/APC 的多色检测体系。但需注意：该染料对光漂白高度敏感，实验全程需在严格避光环境下操作。

【产品性质】

纯度： $A_{\max}/A_{280} > 5.0$

形态：溶液



【运输及储存】

储存条件：2-8℃干燥避光保存，避免冷冻

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. PE-花菁串联染料活化

- PE-花菁串联染料溶于 0.1 M PBS (Ph=7.4, 5 mM EDTA)，浓度 5-10 mg/mL。
- 将 SMCC 溶解于无水二甲基亚砜（DMSO）配制成 10 mg/mL 的母液。
- 每 mg 的 PE-花菁串联染料添加 11 μL 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 1 h，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。
- 反应完成后，将反应液移至超滤离心管内，于 4℃、5 min、12000 g 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 PE-花菁串联染料溶液。

3. 活化 PE-花菁串联染料与抗体偶联

- 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 $[\text{PE-花菁串联染料}] = 0.12245 \times A_{565}$ ，其中[PE-花菁串联染料]是以 mg/mL 为单位的浓度， A_{565} 为波长为 565 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 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砜 (DMSO) 配制成 12.5 mg/mL 溶液 (0.1M)，按照每毫克抗体 5 ul 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

- 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 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偶联。