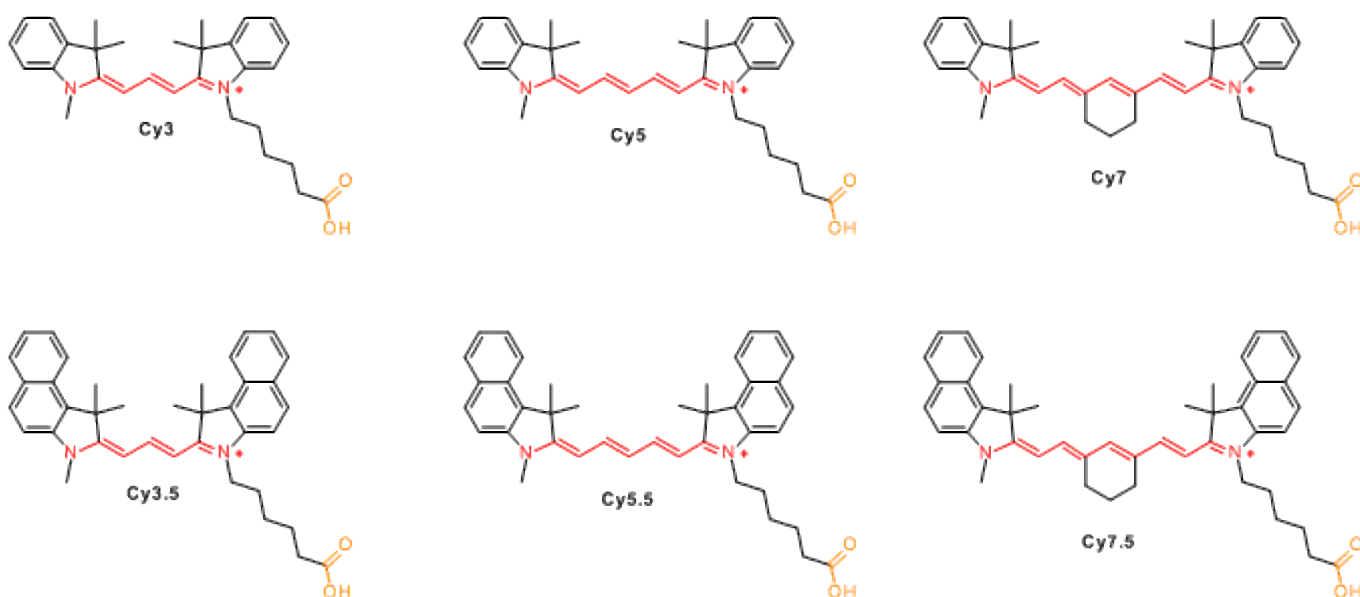


Несульфированные цианины

Несульфированные красители имеют следующие обозначения: Cy3, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7 и Cy7.5. Cy означает «цианин», а первая цифра - число атомов углерода между индолениновыми группами. Cy2 – производное оксазола, а не индоленина, — является исключением из этого правила. Суффикс 0.5 добавляется для бензоконденсированных цианинов.

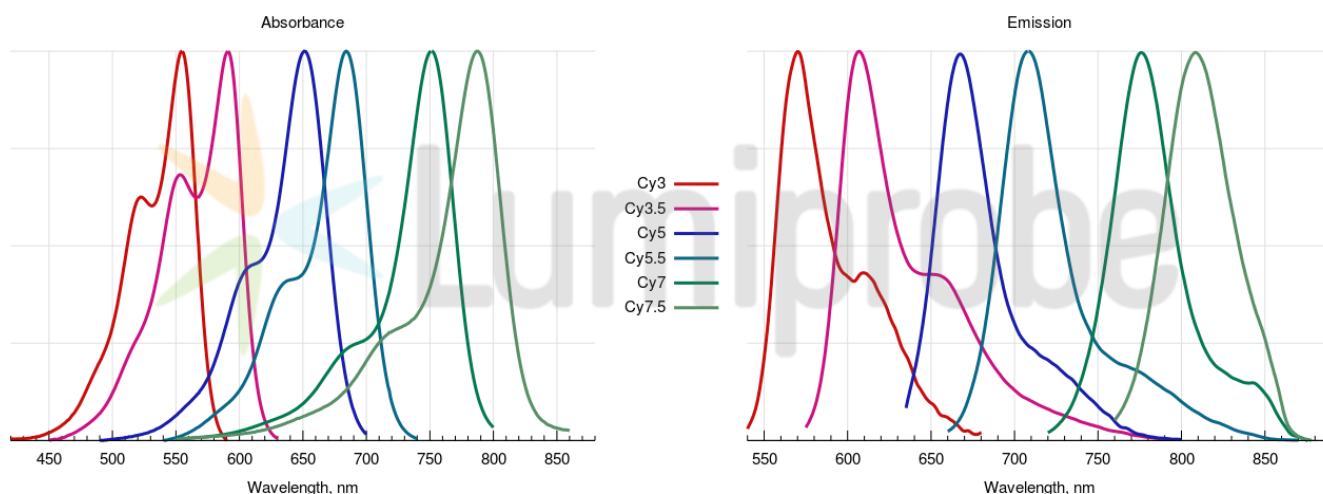
Изменение структуры позволяет изменять флуоресцентные свойства молекул, а также закрыть наиболее важную часть видимого и ближнего ИК-спектра всего несколькими флуорофорами.



Большинство производных несulfонированных цианинов (за исключением гидрохлоридов гидразидов и аминов) имеют низкую растворимость в воде. Когда эти молекулы используются для мечения биомолекул, в реакционной смеси должен присутствовать органический растворитель (5-20% ДМФА или ДМСО). Цианиновый краситель вначале растворяется в органическом растворителе, и добавляется к раствору биомолекулы (белок, пептид, ДНК, меченная аминокислотой) в соответствующем водном буфере. В случае если конъюгация проходит эффективно, растворитель вступает в реакцию быстрее, прежде чем выпадет в осадок.

Флуоресцентные свойства, несulfонированных цианинов мало зависят от растворителя и прочего окружения молекулы. Спектры поглощения и флуоресценции несulfонированных цианиновых красителей приведены ниже.

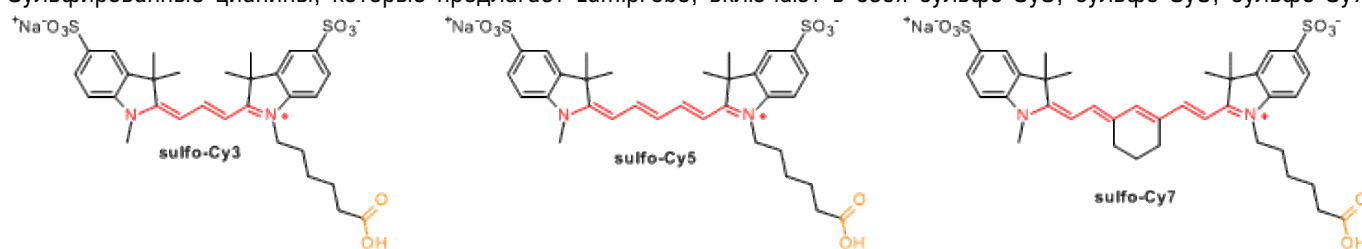
ABSORBANCE AND EMISSION SPECTRA OF NON-SULFONATED CYANINE DYES



Сульфированные цианины

В сульфированных цианинах сульфогруппы способствуют растворению молекул красителя в водной фазе. Заряженные сульфогруппы снижают агрегацию молекул красителя и сильно меченных конъюгатов с биомолекулами.

Сульфированные цианины, которые предлагает Lumiprobe, включают в себя сульфо-Cy3, сульфо-Cy5, сульфо-Cy7.



Сульфированные цианины очень хорошо растворимы в воде. Мечение биомолекул с использованием этих реактивов не требует органического растворителя.

Сульфированные vs несульфированные цианины

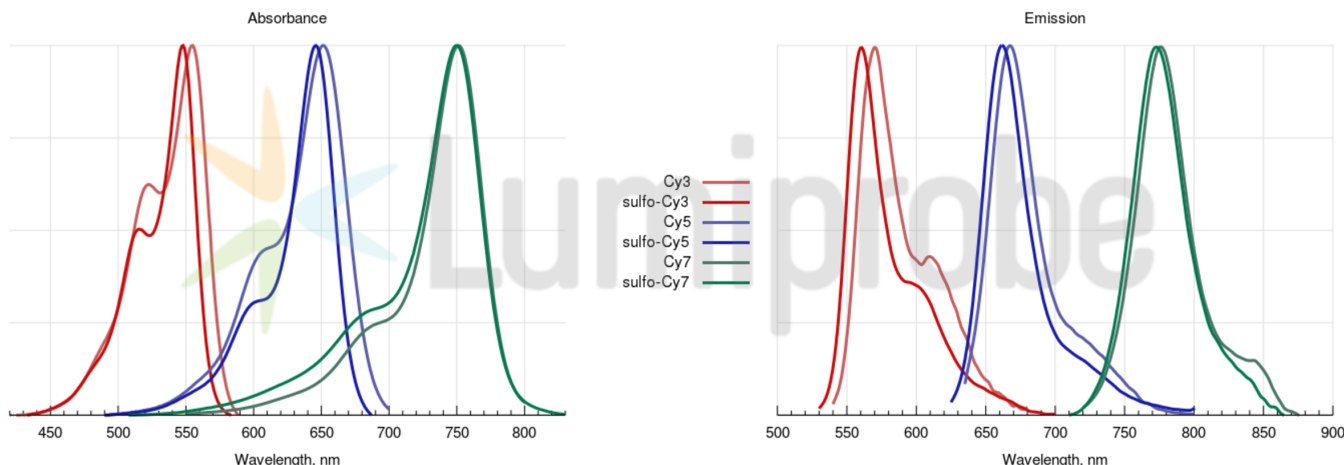
У обоих типов цианинов весьма схожие флуоресцентные свойства, однако есть некоторые различия в протоколах мечения, которые стоит принять во внимание.

Несульфированные цианины должны быть растворены в органическом растворителе (ДМФА или ДМСО) перед использованием и добавлены в таком виде к раствору молекулы-мишени в водном буфере. Рекомендованная объемная доля органического растворителя в реакционной смеси при мечении составляет 10% для Cy3, Cy5 и Cy7; для бензоконденсированных аналогов (.5) она равняется 15%. Сульфированные цианины могут быть использованы в водной среде без добавления органического растворителя.

Также имеются различия в способах очистки: если очистка ведется диализом против воды или водного буфера, должны использоваться сульфо-Cy – только в этом случае гарантируется эффективное удаление непрореагировавшего

красителя. Реакционные смеси после использования и того и другого типа красителей могут быть очищены с помощью гель-фильтрации, хроматографии (ВЭЖХ, , ионообменной) или электрофореза.

ABSORBANCE AND EMISSION SPECTRA OF SULFONATED VS NON-SULFONATED CYANINES



Сульфированные и несульфированные цианины взаимозаменяемы для мечения многих классов молекул, включая:

- растворимые в воде белки, которые нечувствительны к добавлению органического растворителя
- антитела (используйте 5-10% ДМСО/ДМФА)
- ДНК и олигонуклеотиды
- пептиды
- многие небольшие молекулы

Конъюгаты, полученные с использованием сульфированных и несульфированных аналогов (например, сульфо-Cy5 и Cy5), очень схожи по флуоресцентным свойствам, и их можно исследовать во многих типах флуориметров

Однако допустимо использовать только сульфированные цианины, если конъюгация ведется:

- с чувствительными белками, которые денатурируют под действием ДМФА или ДМСО
- с белками, очистка которых потом осуществляется с помощью диализа
- с наночастицами в водных soluitons
- с нерастворимыми или гидрофобными белками

Несульфированные цианины должны быть использованы для:

- реакций в органических средах (дихлорметан, ацетонитрил)

Lumiprobe предлагает следующие цианиновые продукты.

Флуорофор	Реакционноспособная форма
sulfo-Cy3	NHS ester azide carboxylic acid
sulfo-Cy5	NHS ester azide alkyne carboxylic acid
sulfo-Cy7	NHS ester carboxylic acid
Cy3	NHS ester maleimide azide alkyne carboxylic acid
Cy3.5	NHS ester azide carboxylic acid
Cy5	NHS ester maleimide azide alkyne hydrazide amine carboxylic acid
Cy5.5	NHS ester maleimide azide alkyne carboxylic acid
Cy7	NHS ester maleimide azide amine carboxylic acid