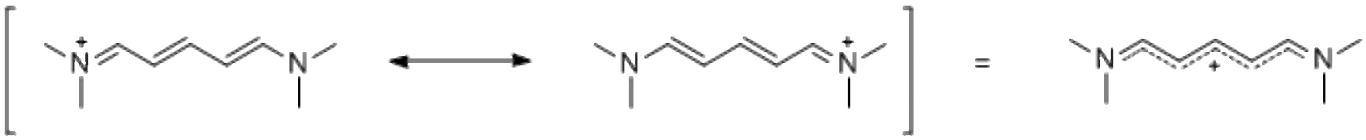
Цианиновые красители

Цианиновые красители представляют собой молекулы, содержащие цепь из нечетного числа метиновых групп между двумя атомами азота с делокализованным зарядом:





Благодаря особенностям структуры, цианины характеризуются очень высокими коэффициентами экстинкции, часто превышающими 100,000 л/моль/см. С помощью различных заместителей можно контролировать такие свойства хромофора как длина волны поглощения, фотостабильность, и флуоресценцию. Например, длину волны поглощения и флуоресценции можно регулировать путем выбора полиметиновых цепочек: длинноцепочечные цианины поглощают в более длинноволновой области, вплоть до ближнего ИК.

Ряд цианиновых красителей используются в приложениях, относящихся к сфере «life science». Некоторые тиазоловые и оксазоловые красители применялись уже давно для мечения белков и ДНК (например, TOTO, YOYO, Stains All и другие). Но наиболее распространенные на данный момент цианиновые красители для научных исследований в области «life science» были синтезированы Аланом Ваггонером с коллегами из Университета Карнеги-Меллон в начале 1990-х годов. Эти красители были получены модификацией цианинового красителя индоцианина зеленого (ICG), который использовался для ангиографии с 1970-х годов. Все они содержат два индолениновых кольца по обеим концам полиметиновой цепочки. У красителей обнаружено свойства слабого неспецифического связывания с биомолекулами, они характеризуются яркой флуоресценцией из-за больших коэффициентов поглощения и хороших квантовых выходов. Вначале будучи закрыты патентами, в настоящее время они уже не защищены авторским правом, так как срок патентов CMU истек. Их можно купить через каталог Lumiprobe в виде ряда реакционноспособных производных N-гидроксисукцинимидных эфиров (NHS-эфиров), малеимидов, азидов для клик-химии, и других производных, пригодных для научных исследований и коммерческого использования.

Есть две разновидности цианиновых красителей: сульфированные и несульфированные цианины. Во многих применениях они взаимозаменяемы, поскольку их спектральные свойства почти идентичны. Как сульфированные, так и несульфированные красители можно использовать для мечения биомолекул, таких как ДНК и белков. Эти два типа красителей различаются своей растворимостью в воде: сульфированные красители водорастворимы, и для их использования в водной среде для мечения не требуется добавлять органический растворитель. Они также менее склонны к агрегации в воде. Есть случаи, когда желательно использование только одного из этих типов красителей (см раздел *Сульфированные vs несульфированные цианины* ниже).

Lumiprobe Corporation
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

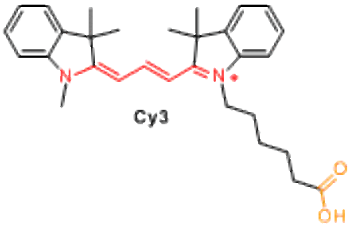
Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

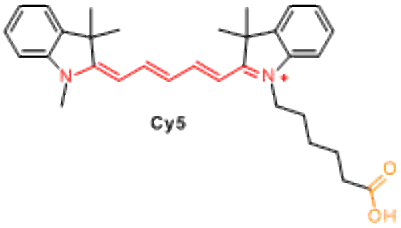
Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

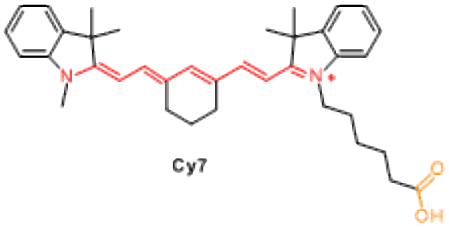
Несульфированные цианины

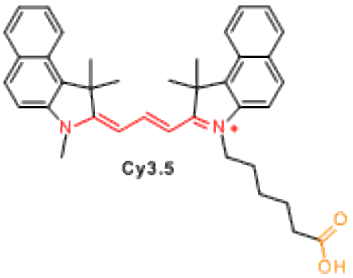
Несульфированные красители имеют следующие обозначения: Cy3, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7 и Cy7.5. Cy означает «цианин», а первая цифра - число атомов углерода между индолениновыми группами. Cy2 – производное оксазола, а не индоленина, – является исключением из этого правила. Суффикс 0.5 добавляется для бензоконденсированных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

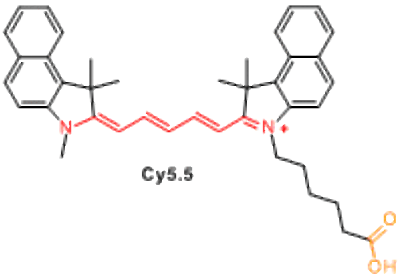
Изменение структуры позволяет изменять флуоресцентные свойства молекул, а также закрыть наиболее важную часть видимого и и ближнего ИК-спектра всего несколькими флуорофорами.

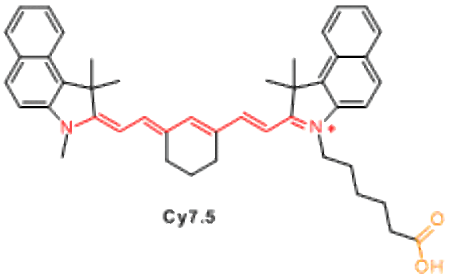












Большинство производных несульфонированных цианинов (за исключением гидрохлоридов гидразидов и аминов) имеют низкую растворимость в воде. Когда эти молекулы используюся для мечения биомолекул, в реакционной смеси должен присуствовать органического растворитель (5-20% ДМФА или ДМСО). Цианиновый краситель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

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

Сульфированные цианины

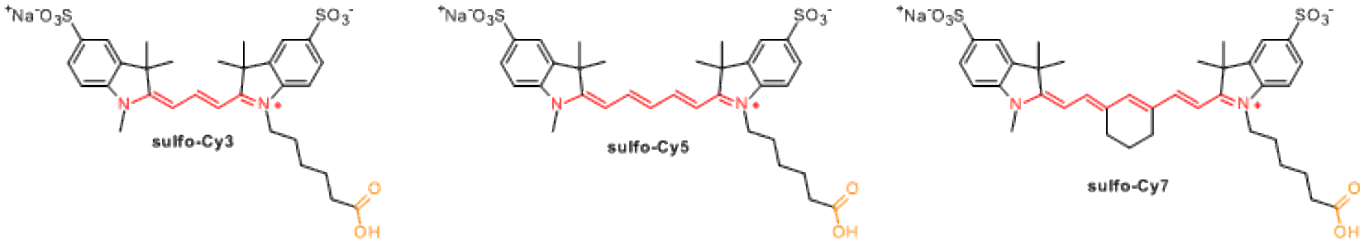
В сульфированных цианинах сульфогруппы способствуют растворению молекул красителя в водной фазе. Заряженные сульфогруппы снижают агрегацию молекул красителя и сильно меченных конъюгатов с биомолекулами.

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

Lumiprobe Corporation
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valey, Maryland 21030
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com



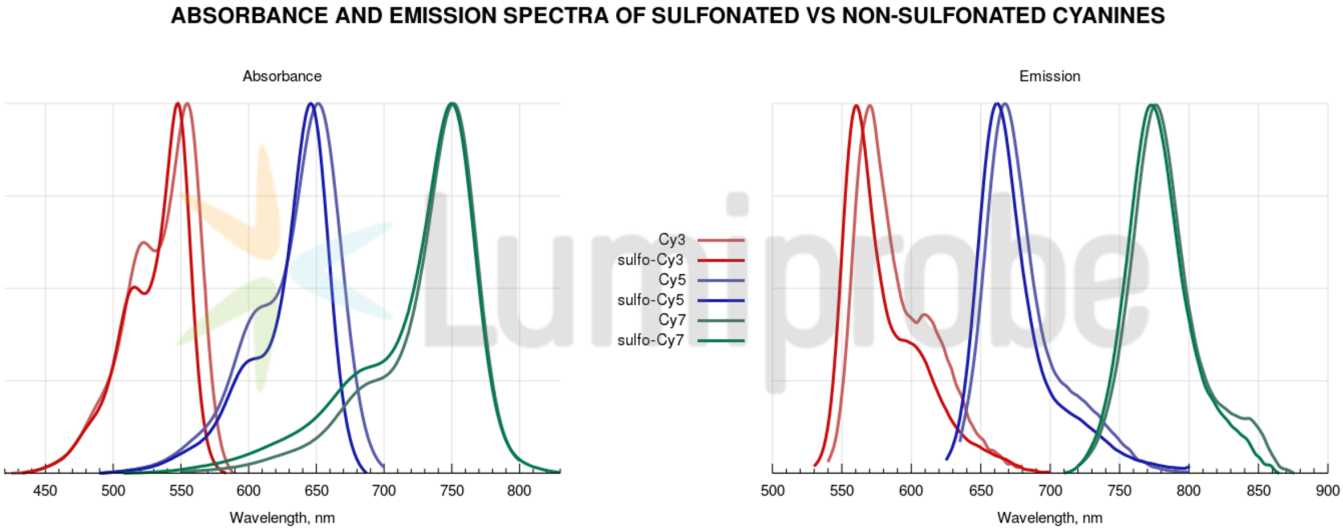
Сульфированные цианины очень хорошо растворимы в воде. Мечение биомолекул с использованием этих реактивов не требует органического растворителя.

Сульфированные vs несульфированные цианины

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

Несульфонированные 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.



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

- растворимые в воде белки, которые нечувствительны к добавлению органического растворителя

Lumiprobe Corporation
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valey, Maryland 21030
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

- 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

Lumiprobe Corporation
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valey, Maryland 21030
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

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

Lumiprobe Corporation
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valey, Maryland 21030
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com