

R-PE 抗体标记试剂盒

R-PE-Antibody conjugation Kit



目录号 规格
APL001-001 2x500ug

北京四正柏生物科技有限公司

相关介绍:

免疫荧光标记技术 (immunofluorescence technique) 是将已知的抗体或抗原分子标记上荧光素, 当与其相对应的抗原或抗体起反应时, 在形成的复合物上就带有一定量的荧光素, 在荧光显微镜下就可以看见发出荧光的抗原抗体结合部位, 检测出抗原或抗体。该技术的主要特点是: 特异性强、敏感性高、速度快。

荧光素标记抗体简称荧光抗体 (FA), 是目前广泛用于免疫病理、细胞化学、流式细胞学、病毒学及自身抗体的临床免疫诊断之中的特异、灵敏、定性和定位相结合的免疫化学试剂。用于标记的抗体, 要求是高特异性和高亲和力的。所用抗血清中不应含有针对标本中正常组织的抗体。一般需经纯化提取 IgG、IgM 后再作标记。

本试剂盒中的荧光素采用高质量进口的藻红蛋白(R-phycoerythrin,R-PE), R-PE 是从红藻中分离纯化的, 是目前普遍使用的荧光标记试剂。R-PE 蛋白的亚基组成为 $(\alpha\beta)_2\gamma$, 每个 α 、 β 亚基分子量为 20KDa, 每个 γ 亚基分子量为 30KDa, 总分子量为 240KDa。R-PE 吸光度和荧光量子产率很高, 荧光强而稳定, 灵敏度高。其最大激发波长为 565nm, 最大荧光发射峰为 575nm。

规格: 标记 2x500ug 抗体

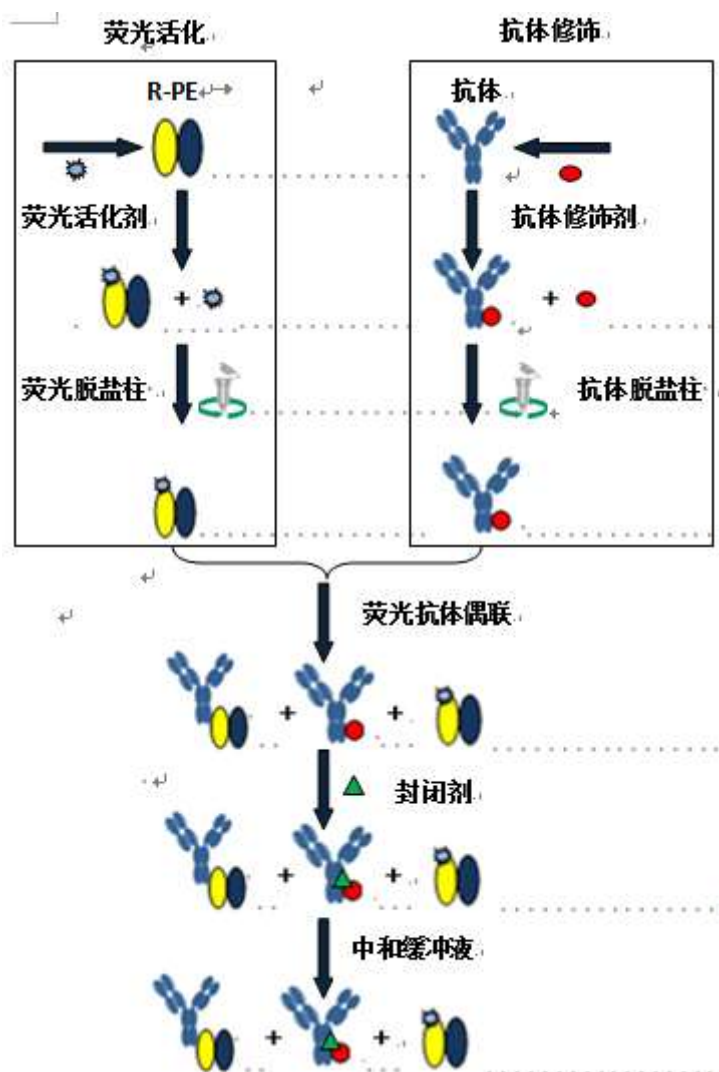
储存条件: 2-8℃避光保存, 勿冻存。

有效期: 2-8℃可避光保存 6 个月

试剂盒组份:

组份	规格	数量
R-PE	125ul	2 支 (避光)
荧光活化剂	/	2 支
抗体修饰剂	/	2 支
封闭剂	/	2 支
DMSO	400ul	1 支
中和缓冲液	50ul	1 支
荧光脱盐柱	0.5ml	4 支
抗体脱盐柱	0.5ml	4 支
脱盐柱收集管	/	8 个

标记流程图示



注意事项:

1. 试剂盒保存在 2-8°C, 勿冻存。
2. 试剂盒组份在运输过程中可能造成颠倒, 会使液体或干粉试剂沾到管壁或瓶盖上。使用前请离心处理, 以使附着管壁或瓶盖的液体或干粉试剂沉积到管底。
3. 荧光活化剂、抗体修饰剂和封闭剂需用现配, 干粉溶解后不能长期保存。
4. DMSO 属微毒类, 对人体皮肤有渗透性, 对眼又刺激作用, 使用时避免与皮肤, 眼睛和黏膜接触。
5. 标记前抗体的透析, 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宜的抗体量。
6. 荧光活化和抗体修饰可同时进行。
7. 本试剂盒可进行 2 次标记 (可标记 2 个相同或不同的抗体)。
8. 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后的 R-PE 进行偶联。

标记步骤:

1. 抗体准备

- 1.1. 建议抗体浓度在 2.5-4.0mg/ml 之间。
- 1.2. 抗体中不要含有 BSA 或其它蛋白质成分。
- 1.3. 抗体保存缓冲液为 PBS, pH7.2-7.4 时标记效果最好, 可将抗体透析至 PBS, pH7.2-7.4 后再进行标记。
- 1.4. 抗体保存缓冲液中如果含有 0.02-0.1%的叠氮化钠不必去除, 对标记没有影响。

2. 抗体修饰:

- 2.1. 取出抗体修饰剂, 离心数秒, 将干粉甩至管底, 管中加入 100ul 去离子水或者 PBS, pH7.4, 用移液枪反复吹打或 vortex 混匀至完全溶解。
- 2.2. 500ug 抗体中加入 9.2ul 抗体修饰剂 (每 100ug 抗体中加入 1.84ul 抗体修饰剂), 混匀后室温静置 1.5hr (可同时进行 R-PE 的活化)。
- 2.3. 使用抗体脱盐柱将修饰后的抗体置换至标记缓冲液中, 同时去除游离的抗体修饰剂。

抗体脱盐柱的使用:

- a. 取出 2 个抗体脱盐柱, 4000rpm 离心 2min。
- b. 暂时保留收集管中液体。
- c. 把抗体脱盐柱放到新的收集管中, 将修饰后的抗体平均分成 2 份分别加入 2 个抗体脱盐柱中, 抗体加入柱中填料的表面。上样体积在 50-110ul 之间。
- d. 待样品渗入填料后, 4000rpm 离心 2min。

注: 抗体的回收体积为上样体积的 90-100%。

3. R-PE 活化:

- 3.1. 取出荧光活化剂, 离心数秒, 将干粉甩至管底, 管中加入 35ul DMSO, 用移液枪反复吹打或 vortex 混匀至干粉完全溶解。
- 3.2. 出 R-PE, 离心数秒, 将 R-PE 甩至管底, 管中加入 7.5ul 已经溶解的荧光活化剂, 用移液枪反复吹打或 vortex 混匀。
- 3.3. 混匀后离心数秒, 将 R-PE 甩至管底, 室温静置 1hr。
- 3.4. 使用荧光脱盐柱将活化后的 R-PE 置换至标记缓冲液中, 同时去除游离的荧光活化剂。

荧光脱盐柱的使用:

- a. 取出 2 个荧光脱盐柱，4000rpm 离心 2min。
 - b. 暂时保留收集管中液体。
 - c. 把荧光脱盐柱放到新的收集管中，将活化后的 R-PE 平均分成 2 份分别加入 2 个荧光脱盐柱中，R-PE 加入柱中填料的表面。上样体积在 50-110ul 之间。
 - d. 待样品渗入填料后，4000rpm 离心 2min。
- 注：R-PE 的回收体积为上样体积的 90-100%。

4. R-PE-抗体偶联

- 4.1. 将收集管中修饰后的抗体逐滴加入到活化的 R-PE 中，边加边用混匀器轻轻混匀，室温避光旋转偶联 2.0hr。
- 4.2. 取出封闭剂，离心数秒，将干粉甩至管底，管中加入 100ul DMSO，用移液枪反复吹打或 vortex 混匀至干粉完全溶解。
- 4.3. 偶联物中加入 2.0ul 封闭剂，用移液枪反复吹打或 vortex 混匀后，室温避光孵育 30min。
- 4.4. 偶联物中加入适量中和缓冲液（每 100ul 偶联物中加入 2.5ul 中和缓冲液）。
- 4.5. 可将偶联物移至一个棕色的 EP 管中，4°C 避光保存待用，4°C 可避光保存 1 年。

相关产品：

目录号	产品名称	规格
APL001-200	R-PE 抗体标记试剂盒	2x 100ug
APL001-500	R-PE 抗体标记试剂盒	0.5mg
APL001-001	R-PE 抗体标记试剂盒	2x0.5mg
SFP005-1	藻红蛋白（R-PE）	1.0mg
SFP005-10	藻红蛋白（R-PE）	10.0mg
CSL003	R-PE 抗体/蛋白标记客户服务	