

ANTBDY®荧光素 Fluor647 标记试剂盒

ANTBDY® Fluor647 Labeling Kit

产品简介：

ANTBDY® Fluor 为活性荧光染料，该系列包括从紫外、可见光谱到近红外光谱常见荧光染料，通过荧光素集团的活性键与生物分子的游离氨基共价结合，用于标记生物分子，特别是抗体、蛋白质和核酸。

产品优势：

- ▲ 对核心结构的创新性修改使得 ANTBDY ® Fluor 染料优于具有许多创新新颖特征的其他商业染料，标记效率更高，发光度更强。
- ▲ ANTBDY ®Fluor647 是一种远红外荧光染料，其激发波长和发射波长分别为 650nm 和 665nm，是 Cy5、Alexa For 647 的超级替代物。与抗体形成更特异的抗体荧光素结合物，背景更低。
- ▲ ANTBDY ®Fluor647 荧光染料为预先活化干粉，使用方便快捷，60-90 分钟可以轻松完成标记
- ▲ 本试剂盒常被用于抗体的直接标记，省却了二抗的使用和其相应的操作步骤。
- ▲ 标记产物在含有防腐剂的保存液中可以放置在 4℃ 至少保存 1 个月以上，-20℃可长期保存。



主要组分：

组分名称 (Components)	型号规格及其对应组分			
	ATB01018-200	ATB01018-500	ATB01018-1000	其他规格可洽定制
可标记抗体量	0.2~1.0mg	0.5~2.5mg	1.0~5.0mg	
活化 Fluor647 干粉	使用时加 DMSO 40ul 溶解	使用时加 DMSO 100ul 溶解	使用时加 DMSO 200ul 溶解	
DMSO	40ul	100ul	200ul	
标记缓冲液 (Coupling buffer)	10mL	15mL	30mL	
标记物保存液 (Preservation Buffer)	2.0mL	2mL*2	10mL	
纯化超滤管:	1 支	1 支	1 支	

其他需要自备材料：

- ✓ 待标记的生物分子
- ✓ 移液器及吸头.
- ✓ 37℃恒温箱
- ✓ 离心机

- ✓ 去离子水.
- ✓ PBS (pH 7.4)

储存条件：

本试剂盒低温运输，收到后请置于-20℃可保存6个月以上。

重要提示：

1. 本试剂盒所配置的活化 Fluor647 荧光染料为干粉，可放置 4℃ 或者 -20℃ 长期保存，使用时加入试剂盒所配的 DMSO 溶解即可用于标记，溶解后的 Fluor647 荧光染料不可保存下次使用，建议一次性使用完；
2. 本试剂盒所配置的超滤管默认截留 30k MWCO, 适合于抗体标记，如果需要标记其他分子量蛋白类物质请与我们联系，给您配置相应分子量截留超滤管（您的待标记物质分子量必须大于超滤管截留分子量的 2 倍以上）；
3. 本试剂盒所推荐的抗体标记量仅供参考，如有更高要求需要实验者具体摸索优化，建议按照推荐最低量进行标记实验。
4. 对待标记抗体、蛋白质的要求：
 - ✓ 待标记物以 0.01M pH7.4 PBS 环境为佳，不应含有甘油、BSA、叠氮钠、氨基物质（包括甘氨酸、Tris 等），EDTA 等物质。如果含有以上小分子物质，需用 0.01M pH7.4 PBS 缓冲溶液进行充分透析、脱盐柱脱盐或者超滤管超滤置换溶液以除去干扰小分子，如果含有保护性蛋白 BSA 等需要想办法将其分离去除；
 - ✓ 调整待标记物至适当的浓度，抗体调整的浓度为 2-10mg/mL 为宜；对于小分子物质需要实验者摸索浓度，保证荧光素的比例过量。
 - ✓ 最佳标记反应条件为试剂盒所提供的标记缓冲液环境，尽可能在标记前将待标记物溶液环境置换为标记还缓冲液；
 - ✓ 如果待标记物溶液中有不溶物、有块状物或者沉淀请离心或者过滤除掉。

使用方法：

➤ 试剂准备

待标记的生物分子与荧光素最佳摩尔比例为 1:8-1:25, 本试剂盒推荐最佳比例为 1:15（按照本试剂盒操作荧光素干粉加入相应量 DMSO 溶解后的荧光素浓度 770uM(770nmol/ml), **通常 1mg/ml 抗体(分子量 150kDa)的浓度为 6.67uM(6.67nmol/ml)**）；为了获得最佳的摩尔比例，可以要通过预实验进行摸索。以抗体标记为例，推荐量如下。最佳标记体系应保证抗体的浓度为 2mg/ml，标记时终浓度不低于 1mg/ml。对于其他标记量，参照表按等比例调整抗体的体积和用量。

➤ 样品准备

待标记的分子浓度不低于 2 mg/ml，如果浓度较低，需在实验之前浓缩到 2mg/ml 以上；待标记的分子需要溶解在符合以下要求的缓冲液中，如果符合以下要求可以直接进行标记，如果不符合请将溶液置换（透析或者超滤）到符合要求的溶液中进行标记实验。

pH	6.5-8.0
不含游离氨基	MES, PBS, HEPES
螯合剂 (e.g. EDTA)	×
甘油	< 5%
牛血清白蛋白	×
甘氨酸	×
含氨基组分	×

➤ 操作流程(以标记 100ug 抗体为例，浓度为 2mg/ml)

- 1) 将待标记抗体溶液置换成标记缓冲液，或者加入 1/10 体积标记缓冲液，用移液器轻轻混匀；
- 2) 取 20ul(按照抗体与荧光素摩尔比=1:23)活化的 Fluor647 溶液加入到上述步骤混匀的抗体中，轻轻混匀，37℃ 避光

反应 1 小时；

- 3) 反应完毕,将适量的 PBS(约 450uL)加入到步骤 2)的混合溶液中,轻轻混匀并将溶液移至超滤管芯,4°C 12000rpm 离心 5min ;
- 4) 离心完毕,取出管芯将外套管内溶液弃掉,管芯重新插入外套管,在管芯内重新加入适量的 PBS (约 450uL) 4°C 12000rpm 离心 5min ;
- 5) 重复步骤 4) 5 次以上 ;
- 6) 将超滤管芯内溶液轻轻混匀并吹打管芯内壁,并转移到干净避光离心管,此即为荧光素标记产物。

➤ 标记产物的保存

根据实验需要调整到合适的浓度,可加入适量 BSA,甘油及防腐剂等,分装成小分-20°C避光保存;也可以将试剂盒附带的标记物保存液与标记产物按照体积比 1 : 1 混匀后,即可分装保存。

常见问题及解决办法 :

Q: 待标记分子经过浓缩浓度仍然达不到 2 mg/ml ,再浓缩就产生沉淀了怎么办?

A: 标记的时候尽可能达到这个浓度,如果实在达不到这个浓度,适当增加加入的活化的荧光素的量;最佳标记效果可以梯度增加荧光素用量试验测试来确定。

Q: 待标记分子与荧光素的摩尔比只能是 1:8 - 1:25 之间 ?

A: 这个要根据不同生物分子性质确定,更准确的说与生物分子表面氨基个数有关系;最佳标记比例可根据梯度用量测试确定。

Q: 如果选择标记试剂盒中的超滤管型号?

A: 一般来说,您待标记生物分子的分子量是超滤管截留分子量的 2 倍以上最好;比如,标记抗体,抗体分子量为 150Kd,选择分子截留 75kD 以下的都可以,分子量截留越小,超滤越慢。如果分子量太小,标记完以后建议用更高精度的纯化方式,比如,10kD 分子量建议用 HPLC 纯化

***本试剂仅供实验室研究使用**