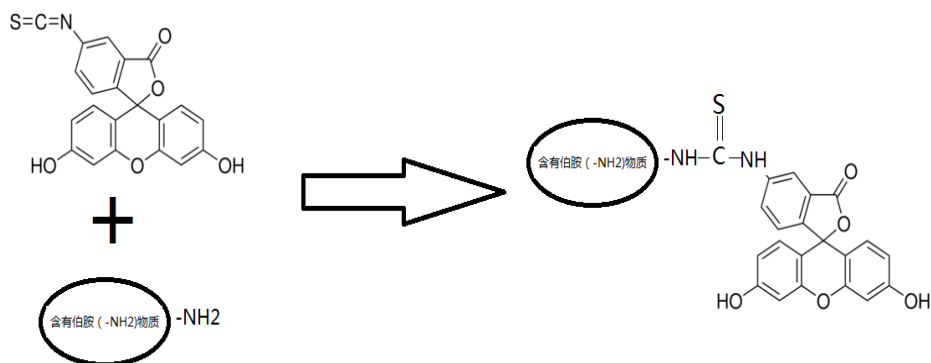


FITC 快速标记试剂盒

FITC Quick Labeling Kit

产品简介：

本 FITC 标记试剂盒提供了 FITC 快速标记所需全部试剂，用于含有伯氨基 (NH₂-) 的蛋白/抗体/多肽或者其他大分子的标记，待标记物上的赖氨酸残基的游离 ε-氨基可与 FITC 发生亲核反应，形成硫脲连接而共价结合，形成的偶联物的稳定性很好，其反应原理如下：



FITC 清除指示剂为蓝色，其为 FITC 的结构类似物，其数量为加入的 FITC 的 20 倍以上，在通过超滤管离心清除游离 FITC 的时候，如果超滤管中没有蓝色了，游离的 FITC 基本上被清除完毕。

产品优势：

- 使用方法简单，无需额外准备试剂；
- 通过离心脱盐和去除游离的 FITC，无需透析或者凝胶过滤；
- 本试剂盒配备指示剂，确保游离 FITC 去除完全。

主要组分：

活性 FITC	2mg/4mg/6mg
超 滤 管	0.5mL/4mL/15mL
助溶剂(DMSO)	1.5mL/3mL/4.5mL
标记缓冲液	30mL/60mL/90mL
清除指示剂	1mL/2ml/3ml
标记物保存液	2mL/4ml/10ml

储存条件：

本试剂盒低温运输，收到后请置于-20℃可保存 18 个月。

FITC 标记使用量的计算：

每个反应中 FITC 试剂的使用量取决于待标记蛋白质氨基数目和总量。例如，通过我们实验数据分析表明，标记 2mg/ml 的抗体 (IgG，150KD)，每毫升抗体溶液 (2mg/mL) 加入 100μL 的 FITC(2mg/mL) 能达到最佳标记效果效果；其他蛋白的标记可以根据实际情况，参照此比例类推。

实验前准备：

1. 仔细阅读使用说明书。
2. 提前 20min 从冰箱中取出试剂盒，使试剂盒各组分平衡至室温；
3. 用 FITC 助溶剂 (DMSO，使用前需要放在室温融化) 溶解 FITC。

特别提示：

- A. 溶解的活化好 FITC 最好一次性使用完，如果使用不完可以密封放在 -20℃ 的冰箱内，一周内可以使用，但是标记效率会降低；
- B. FITC 助溶剂使用完之后需要立即密封保存，防止吸潮。

操作步骤：(本操作步骤按照 1mg 抗体的量进行标记)

1. 取 1mg 待标记抗体于超滤管中，并加入不超过超滤管最大体积的标记缓冲液，12,000 x g 离心 10min；可以重复此步骤多次；最后一次超滤完成，可以加入适量标记缓冲液调整抗体的浓度到 2mg/mL 左右；
 - A. 超滤管的最大体积和最大截留分子量，本实例超滤管的最大体积为 0.5mL；
 - B. 如果待标记抗体浓度低时，可先超滤离心浓缩；
 - C. 如果待标记物含有游离的氨基 (Tris, 氨基酸或者其他干扰物，需要用标记缓冲液反复超滤确保其去除干净)
2. 加入溶解的 FITC 50μL 至上述超滤管中，并轻轻吹打混匀。放入 37℃ 恒温箱中避光温育 60min 以上；
3. 标记结束以后加入 1/10 体积的 FITC 清除指示剂至上述超滤管中；
4. 12,000 x g 离心 10min；
5. 加入适量标记缓冲液至上述超滤管中，并轻轻吹打混匀，12,000 x g 离心 10min。并重复操作多次，直至超滤管中没有蓝色，未标记的 FITC 被彻底清除干净；收集超滤管中的溶液，即为 FITC 标记抗体。

标记偶联比率的计算：

$$F/P = \frac{MW}{389} \times \frac{A_{495}/195}{[A_{280} - (0.35 \times A_{495})]/E_{0.1\%}^{280}} = \frac{A_{495} \times C}{A_{280} - (0.35 \times A_{495})}$$

$$\text{其中 } C = \frac{MW \times E_{0.1\%}^{280}}{389 \times 195}$$

C 是某个蛋白的一个常数；

MW 是蛋白的分子量；

389 是 FITC 的分子量；

195 是偶联的 FITC 在 490nm (PH13.0) 情况下 1mg/ml 的吸光值；

A495 是已标记物在 495nm 情况下的吸光值；

A280 是已标记物在 280nm 情况下的吸光值，此吸光值应在 0.2-1.4 之间，如果超出这个范围需要稀释后再测值；

(0.35 X A495) 是 FITC 在 280nm 情况下吸光值的校正系数；

E0.1% 是 1.0 mg/ml 的蛋白在 280nm 的吸光值。

注意事项：

1. 本试剂盒适用于所有含有 ε-氨基 (NH₂-) 的大分子物质的标记，(蛋白，抗体，以及其他含有伯氨基 (NH₂-) 的化合物分子)，具体标记比例根据待标记物中氨基的数量确定；
2. 本试剂盒中的 FITC 助溶剂为 DMSO，使用完毕后要密封干燥保存；
3. 本试剂盒配备了标记物保存液，实验人员也可以根据被标记物的特点不同，选择更适合的保存液。
4. 本试剂盒未开封前的有效期为 18 个月，请在有效期内使用。
5. 本系列试剂盒提供的为超滤管分为不同的截留分子量和不同的最大容积，客户需要根据自己要标记的物质的分子量大小和标记量选择适合的型号；

***本试剂仅供实验室研究使用**

请根据待标记物的分子量大小和标记量选择最适宜的型号

产品编号	最大标记体积	待标记物最小分子量	可标记抗体量
ATB01027-3K-0.5mL	0.5mL	3kDa	0.2-10mg
ATB01027-3K-4.0mL	4.0mL	3kDa	1.0-80mg

ATB01027-3K-15mL	15mL	3kDa	5-300mg
ATB01027-10K-0.5mL	0.5mL	10kDa	0.2-10mg
ATB01027-10K-4.0mL	4.0mL	10kDa	1.0-80mg
ATB01027-10K-15mL	15mL	10kDa	5-300mg
ATB01027-30K-0.5mL	0.5mL	30kDa	0.2-10mg
ATB01027-30K-4.0mL	4.0mL	30kDa	1.0-80mg
ATB01027-30K-15mL	15mL	30kDa	5-300mg
ATB01027-50K-0.5mL	0.5mL	50kDa	0.2-10mg
ATB01027-50K-4.0mL	4.0mL	50kDa	1.0-80mg
ATB01027-50K-15mL	15mL	50kDa	5-300mg
ATB01027-100K-0.5mL	0.5mL	100kDa	0.2-10mg
ATB01027-100K-4.0mL	4.0mL	100kDa	1.0-80mg
ATB01027-100K-15mL	15mL	100kDa	5-300mg