

FITC-Antibody conjugation Kit FITC 抗体标记试剂盒

编号: BA00111

产品介绍:

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异硫氰酸荧光素 (FITC), FITC 标记抗体的原理是利用 FITC 上的 $N=C=S$ 基团和抗体上游离的 $-NH_2$ 发生化学形成 FITC-抗体结合物, 即荧光抗体。一般一个 IgG 分子可结合 2-8 个分子的 FITC。

规格: 标记 100ug-1mg 抗体

保存条件: 2-8℃避光保存, 一年有效。勿冻存。

试剂盒组份:

组份	BA00111-100ug
FITC	1 支 (避光)
调整缓冲液	500ul
DMSO	150ul
纯化柱	2 支
收集管	2 个

标记流程图示:



注意事项：

1. 试剂盒保存在 2-8℃，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. FITC 需现用现配，溶解后的 FITC 不能长期保存。
4. 纯化柱中的缓冲液含有毒性成分叠氮化钠 (NaN_3)，使用时避免与皮肤，眼睛和黏膜接触。
5. 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。
6. 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。

标记操作步骤：

1. 抗体准备
 - 1.1. 建议抗体浓度在 1-2mg/ml 之间。
 - 1.2. 抗体中不要含有 BSA 或其它蛋白质成分。
 - 1.3. 抗体缓冲液中不要含有氨基的盐（如：Tris, NaN_3 等），pH 在 6.5-8.5 为宜。
2. 抗体标记
 - 2.1. 取出 FITC 离心数秒，将管中 FITC 干粉甩至管底；
 - 2.2. 管中加入 50ul DMSO 用移液枪反复吹打或 vortex 混匀至 FITC 完全溶解；
 - 2.3. 抗体中加入适量调整缓冲液（每 100ul 抗体中加入 10ul 调整缓冲液）；
 - 2.4. 将溶解后的 FITC 加入抗体中（每 100ug 抗体中加入 4.0ul FITC），用移液枪反复吹打或 vortex 混匀。
 - 2.5. 将抗体-FITC 混合物置水平摇床或旋转混匀仪，在摇动状态下室温避光（反应管可包裹锡箔纸）反应 1h。
注：如果需要较高 F/P 值，可适当延长抗体和 FITC 偶联时间。
3. 游离 FITC 去除
 - 3.1. 取出纯化柱，将纯化柱 3000rpm 离心 2min。
 - 3.2. 暂时保留收集管中的缓冲液。
 - 3.3. 将纯化柱移至新的收集管上，吸取抗体-FITC 偶联物置纯化柱中填料的表面。如果样品体积小于 50ul，应先用 3.2 保留的缓冲液将液体量补足 50ul。上样体积最大不要超过 100ul。
 - 3.4. 待样品渗入填料后，3000rpm 离心 2min。
 - 3.5. 将抗体-FITC 标记物 4℃避光保存待用，终产品可 4℃可避光保存 1 年。