



Alexa Fluor 荧光素抗体标记试剂盒 Alexa Fluor-Antibody conjugation Kit

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 Alexa Fluor 荧光素，AF 荧光素标记抗体的原理是利用 Alexa Fluor 上的 NHS 基团和抗体上游离的 -NH₂ 发生化学形成 AF-Ab 结合物，即荧光抗体。一般一个 IgG 分子可结合 2-8 个分子的 Alexa Fluor 荧光素分子。

规格：可标记 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	数量
Alexa Fluor 荧光素	1 支 (避光)
调整缓冲液	500ul
DMSO	150ul
纯化柱	2 支
收集管	2 个

编号	Alexa Fluor 荧光素
BA00123	Alexa Fluor 350
BA00124	Alexa Fluor 405
BA00126	Alexa Fluor 488
BA00129	Alexa Fluor 555
BA00130	Alexa Fluor 594
BA00132	Alexa Fluor 647
BA00133	Alexa Fluor 680
BA00134	Alexa Fluor 750

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. Alexa Fluor 需现用现配，溶解后的 Alexa Fluor 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 (NaN₃)，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, NaN₃等），pH 在 6.5-8.5 为宜。

2. 抗体标记

- 2.1. 取出 Alexa Fluor 离心数秒，将管中 Alexa Fluor 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 Alexa Fluor 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 Alexa Fluor 加入抗体中（**每 100ug 抗体中加入 4.0ul Alexa Fluor**），用移液枪反复吹打或 vortex 混匀。
- 2.5. 将抗体-Alexa Fluor 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 Alexa Fluor 偶联时间。

3. 游离 Alexa Fluor 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-Alexa Fluor 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-Alexa Fluor 标记物 4°C 避光保存待用。

4. 标记抗体保存

- 4.1. 标记抗体可 4°C 避光保存，也可以根据需要进行加入 BSA、防腐剂、甘油等成分保证产品稳定。
- 4.2. 推荐保存液：0.01M TBS(pH7.4) 含 1% BSA, 0.03% Proclin300 和 50% 甘油。