

PE-Cy5 Antibody Conjugation Kit

Cat No: B1OK1987

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 PE-Cy5 是将我公司高质量的藻红蛋白(R-phycoerythrin,R-PE)和小分子荧光染料 Cy5, 经偶联而成的 Tandem 荧光染料。PE-Cy5 为目前流式细胞仪的常用荧光染料, 其最大激发波长为 488nm, 最大发射波长为 670 nm。

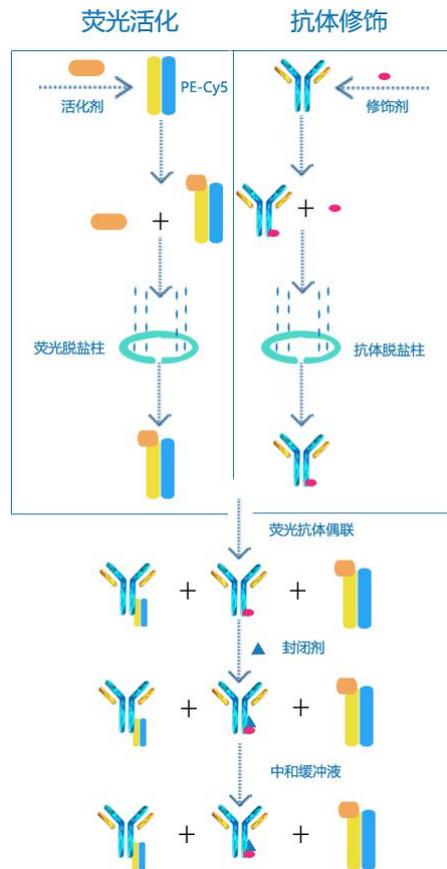
Size: 500 ug*2**Storage:** 2-8°C. Keep away from light**Shelf life:** 6 month

组份	规格	数量
PE-Cy5	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

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现用现配，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，对眼有刺激作用，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 PE-Cy5 进行偶联。

标记流程图示



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 PE-Cy5 的活化)。

北京百欧泰生物科技有限公司

Tel: 400-669-8850 Email: info@biotyscience.com

Address: 北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号

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. PE-Cy5 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.** 取出 PE-Cy5，离心数秒，将 PE-Cy5 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 PE-Cy5 甩至管底，室温静置 1hr。
- 3.4.** 使用荧光脱盐柱将活化后的 PE-Cy5 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 PE-Cy5 平均分成 2 份分别加入 2 个荧光脱盐柱中，PE-Cy5 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：PE-Cy5 的回收体积为上样体积的 90-100%。

4. PECy5-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 PE-Cy5 中，边加边用混匀器轻轻混匀，室温避光选择孵育 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℃避光保存待用，4℃可避光保存 1 年。

Contact Us

QQ:499854788

3494243873

WeChat: 13681256816

15511114213

Email: info@biotyscience.com

Tel: 400-669-8850

13681256816