

ANTBDY® 荧光素 Cy5 标记试剂盒

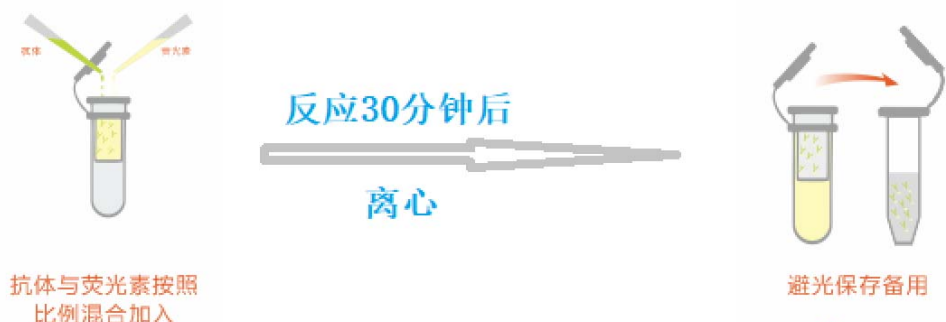
ANTBDY® Cy5 Labeling Kit

产品简介：

ANTBDY® 荧光染料为活性荧光染料，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，用于标记抗体、蛋白质。

产品优势：

- ▲ 对核心结构的创新性修改使得 ANTBDY® Cy5 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® Cy5 是一种荧光染料，其激发波长和发射波长分别为 646nm 和 664nm，它与抗体形成更特异的抗体荧光素结合物，背景更低。
- ▲ ANTBDY® Cy5 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			
	ATB01012-200	ATB01012-500	ATB01012-1000	
可标记抗体量	0.2~1.0mg	0.5~2.5mg	1.0~5.0mg	
活化 Cy5 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	其他规格可洽定制
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 Cy5 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 Cy5 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，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(nmol/ml), **通常 1mg/ml 抗体 (分子量 150kDa) 的浓度为 6.67uM(nmol/ml)**)；为了获得最佳的摩尔比例，可以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	×

➤ **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 Cy5 溶液加入到上述步骤混匀的抗体中，轻轻混匀，37°C 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心内壁，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**