

产 品 说 明 书

APC-Cy/YF Tandem Dye Antibody Labeling Kits (APC-Cy/YF 串联染料抗体标记试剂盒)

产品货号: P6011S, P6011M, P6011L

产品规格: 50 µg, 100 µg, 500 µg

产品内容:

组分	P6011S (50 µg)	P6011M (100 µg)	P6011L (500 µg)
A: Modified Tandem dye	1 vial	1 vial	1 vial
B: Linking Reagent	1 vial	1 vial	1 vial
C: Storage Buffer	100 µL	100 µL	100 µL
D: Ultrafiltration vial (MWCO=10Kda)	2 each	2 each	2 each

染料信息

			货号		
Label Dye	Ex (nm)	Em (nm)	1 × (50 µg)	1 × (100 µg)	1 × (500 µg)
APC - Cy5.5	650	690	P601131S	P601131M	P601131L
APC - Cy7	650	785	P601132S	P601132M	P601132L
APC - YF750	650	780	P601133S	P601133M	P601133L

储存条件

-20°C避光保存, 有效期见外包装。

产品应用

APC-Cy/YF 串联染料是由两个共价连接的荧光分子组成, 串联染料具有供体分子的激发特性和受体分子的发射特性, 因此具有较大的 Stokes shift, 非常适合流式抗体的标记。

APC-Cy/YF 串联染料标记可以兼容 NaN_3 、低浓度的甘油、Tris 和甘氨酸。试剂盒里提供的微型超滤离心管可以在标记前快速去除不兼容的小分子抗体稳定剂。

我们还提供酶标记和荧光标记的 Super-n-stain[®]试剂盒 (请访问 www.uelandy.com)。

准备工作

APC-Cy/YF 串联染料抗体标记试剂盒适合标记抗体。我们不建议标记其他蛋白质, 因为标记的 DOL (degree of labeling) 可能达不到较好值。

检查你的抗体与抗体兼容性指南。如果你的一抗是商业产品, 请联系供应商以获取抗体浓度和配方。不含稳定剂的抗体溶液可以得到较好的标记结果, 而标准的标记步骤可以兼容低浓度的 Tris 和甘油, 标记液不受 NaN_3 的影响。对于标准的标记步骤 (B), 根据需要标记的抗体的 µg 数量选择试剂盒的规格。



去除非蛋白成分如 Tris、甘氨酸或甘油，可以用试剂盒中提供的超滤管来纯化您的抗体，步骤如下（A）。

标记效率较高的抗体浓度为 1 mg/mL。超滤管可用于浓缩抗体（或清洗抗体）。为定量未知浓度的抗体，UElandy 提供 WonderOrange™ 蛋白质定量试剂盒（W6006），一种高度敏感性的蛋白质荧光定量测定试剂盒。如果不需要去除或浓缩抗体，则按照标准步骤（B）进行实验。

表 1 抗体兼容性和标记步骤选择指南

组分	兼容性
NaN ₃	兼容
甘油	≤10%: 标准步骤（部分 B） >10%: 执行超滤（部分 A）
Tris	≤20 mM: 标准步骤（部分 B） >20 mM: 执行超滤（部分 A）
甘氨酸	执行超滤（部分 A）

A. 超滤步骤

重要: 在您开始之前，对照表 1（抗体兼容性和标记步骤选择指南）确定您的抗体在标记前是否需要超滤。如果有必要，联系抗体厂家了解抗体和抗体稳定剂的浓度。如果您的抗体不需要超滤，根据表 1 选择合适的标记步骤。超滤膜截留的分子量为 10 kDa，因此，小于 10 kDa 将可以通过膜，而分子大于 10 kDa 的，包括抗体，将保留在超滤管中（图 1）。注意不要用吸管触碰膜，这会撕裂或穿刺膜，导致抗体损失。

超滤管性能

最大样本体积：500 μL 最终浓缩体积：15-20 μL

滤液接收器体积：500 μL

滞留体积（膜/支持）：< 5 μL

1. 添加适量的抗体至超滤管中，小心不要触碰膜。14000 ×g 离心 2 min，使液体过滤进收集管，去除收集管中的液体。
2. 对于浓缩抗体，进行第 3 步。对于纯化抗体，加入等体积 1×PBS（PH 7.2）至超滤管中。14000 ×g 离心 2 min 使液体过滤进收集管，去除收集管中的液体。重复清洗 2-3 次。
3. 添加适当体积的 1×PBS（PH 7.2）至超滤管中，使得最终的抗体浓度为 1 mg/mL，小心吹吸 PBS 以重悬抗体。
4. 将上述超滤管倒放入新的收集管中，1000 ×g 离心 2 min，将收集管中的抗体转移至干净的 EP 管中。

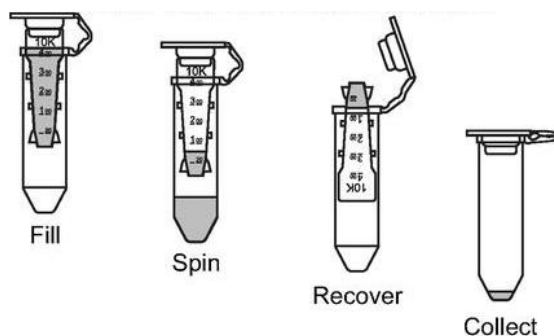


图 1. 超滤管组成

B. 标准的标记步骤

重要: 在您开始之前, 对照表 1 (抗体兼容性和标记步骤选择指南) 确定您的抗体组成和浓度是否适用于该试剂盒标记, 以及哪种标记步骤适合您选择。如果有必要, 联系抗体厂家了解您的抗体和抗体稳定剂的浓度。

1. 抗体浓度 1 mg/mL 是较合适的标记浓度。如果抗体是冻干形式或浓度更浓, 用 1×PBS (PH 7.2) 溶解或稀释抗体。将需要标记的抗体转移到干净的管子里。确保待标记的抗体量匹配试剂盒的标记范围。

2. 将 Linking Reagent 恢复室温。短暂离心试剂管将粉末集中到底部。

3. 将抗体 (1 mg / mL) 转移至含有 Linking Reagent 的管中, 溶解混匀, 室温 (25°C), 1000 rpm 摇晃反应 1h。

注: 室温较低的情况下, 建议延长反应时间。

4. 将上步的溶液全部转移至超滤管中, 加入 200 μ L 1×PBS (PH 7.2), 14000 $\times$ g 离心 2 min。抗体将残留在超滤管中, 丢弃收集管中的液体。

5. 重复清洗一次。

6. 将上述超滤管倒放入新的收集管中, 1000 $\times$ g 离心 2 min, 向收集管中加入适量的 1×PBS (PH 7.2), 根据添加到反应中的抗体量, 将抗体重新悬浮到最终浓度为 1 mg/mL。

7. 将上述液体转移至含有 Modified Tandem dye 的管中, 溶解混匀, 室温 (25°C), 1000 rpm 避光摇晃孵育 4h。

8. 向上步反应溶液中加入 1/10 体积的 Storage Buffer, 涡旋混匀, 室温 (25°C) 避光摇晃孵育 1h。

9. 修饰好的抗体可直接用于染色, 如需-20°C保存, 则需另加入等体积甘油。

注意事项

1. 管子从冰箱拿出需先恢复至室温, 再揭开管子封口膜打开产品, 避免产品回潮, 影响产品使用效果。

2. 标记不同的抗体, 所需染料与抗体的标记比例可能不同, 当排除抗体质量、标记步骤等其他可能影响标记结果的因素后, 可考虑降低抗体质量来达到较好的标记效果。

