

# R-PE 抗体标记试剂盒

## R-PE-Antibody conjugation Kit



目录号                      规格  
APL001-100                  100μg

### 相关介绍:

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的藻红蛋白(R-phycoerythrin,R-PE)，R-PE 是从红藻中分离纯化的，是目前普遍使用的荧光标记试剂。R-PE 蛋白的亚基组成为  $(\alpha\beta)_6\gamma$ ，每个  $\alpha$ 、 $\beta$  亚基分子量为 20KDa，每个  $\gamma$  亚基分子量为 30KDa，总分子量为 240KDa。R-PE 吸光度和荧光量子产率很高，荧光强而稳定，灵敏度高。其最大激发波长为 565nm，最大荧光发射峰为 575nm。

**规格:** 标记 100μg 抗体

**储存条件:** 2-8℃避光保存，勿冻存

**有效期:** 2-8℃避光保存 6 个月

### 试剂盒组份:

编号	组份	规格	数量
A	抗体修饰剂	/	1 支
B	抗体脱盐柱	/	1 支
C	标记缓冲液	1500μL	1 支
D	活化 PE	240μL	1 支
E	标记反应管	2000μL	1 支
F	封闭剂	/	1 支
G	DMSO	200μL	1 支

## 注意事项

- 1) 本试剂盒需 2-8℃ 保存，勿冻存；
- 2) 试剂盒各组份在运输过程中可能造成内容物（液体或干粉）附着于管壁或瓶盖上，使用前请低速离心数秒，以使附着的液体或干粉试剂集中至容器底部；
- 3) 本试剂盒中 PE 需避光低温保存，标记过程尽量保证其避光；
- 4) 抗体修饰剂以及封闭剂均需现用现溶，干粉溶解后需尽快使用；
- 5) 为保证标记效果，建议使用的抗体特异性高且纯度不低于 90%；
- 6) 抗体溶液中不宜含有游离氨基与游离巯基，如抗体保存缓冲液中涉及 BSA，需提前去除；
- 7) 抗体修饰后所带的基团容易被重新氧化，影响后续标记效果，建议修饰后抗体尽快与活化 PE 进行偶联；
- 8) 本试剂盒中部分试剂直接接触皮肤有一定危害性，建议实验过程中做好防护措施，如佩戴口罩与手套；其中 DMSO 溶剂属微毒类，对人体皮肤有渗透性，使用时应避免与皮肤、眼睛和黏膜接触。

## 试剂盒操作流程

### 1. 抗体的修饰

- 1) 取待标记抗体 100 $\mu$ g，用 pH7.2-7.4 的 PBS 调整抗体浓度至 1-5mg/mL（抗体浓度应不低于 1mg/mL）；
- 2) 从试剂盒中取出**抗体修饰剂(A)**，低速离心机离心数秒，使管内干粉集中至管底，向管中加入 100 $\mu$ L 去离子水，用移液枪反复吹打或涡旋混合器混匀至完全溶解，制成抗体修饰剂溶液；
- 3) 向 100 $\mu$ g 抗体中加入 1.85 $\mu$ L 抗体修饰试剂溶液（每 100 $\mu$ g 抗体加入 1.85 $\mu$ L 抗体修饰试剂液），涡旋混匀，37℃ 恒温箱混合反应 1.5 小时；
- 4) 反应完成后，取出试剂盒中的**抗体脱盐柱(B)**，向脱盐柱添加 0.1mL **标记缓冲液(C)**，2000-4000rpm 离心 30s-1min，弃去滤出液；将反应完成的抗体转移至抗体脱盐柱中填料表面，以 2000-4000rpm 离心 1-2min 收集滤出液即为修饰后的抗体。

注：脱盐柱使用方法：

- ① 向脱盐柱加入 0.1mL 标记缓冲液，2000-4000rpm 离心 30s-1min，拿起套管中含填料的部分，将底部滤出液弃去，重新将套管放回；
- ② 向填料表面加入修饰后抗体，如修饰后抗体体积小于 50 $\mu$ L，补加**标记缓冲液(C)**至体积为 100 $\mu$ L，以 2000-4000rpm 低速离心 1-2min 收集滤出液。

### 2. 修饰后的抗体与 PE 偶联

- 1) 将装有**活化 PE(D)**的棕色试剂管，低速离心机离心数秒使得 PE 溶液集中于管底，将体积为 240 $\mu$ L 的 PE 转移至**标记反应管(E)**中，并向**管(E)**缓慢滴加以上步骤 1.得到的修饰后抗体，

加入后立即混匀（每 100 $\mu$ g 修饰抗体对应 240 $\mu$ g 修饰后的 PE）混合，25 $^{\circ}$ C恒温箱避光混合反应 2 小时；

2) 取出试剂盒中的**封闭剂(F)**，低速离心机离心数秒，使管内干粉集中至管底，向管中加入 100 $\mu$ L **DMSO(G)**，混匀使封闭试剂完全溶解，配成封闭剂溶液；

3) 加入 0.34 $\mu$ L 的封闭试剂溶液至 2.1 的反应产物中，25 $^{\circ}$ C恒温箱避光混合 30 分钟；

4) 将以上混合物转移至棕色试剂管或包裹铝箔纸中置于 2-8 $^{\circ}$ C保存待用。

#### 相关产品

目录号	产品名称	规格
APL001-200	R-PE 抗体标记试剂盒	2x 100 $\mu$ g
APL001-500	R-PE 抗体标记试剂盒	0.5mg
APL001-001	R-PE 抗体标记试剂盒	2x0.5mg
SFP005-1	藻红蛋白 (R-PE)	1.0mg
SFP005-10	藻红蛋白 (R-PE)	10.0mg
CSL003	R-PE 抗体/蛋白标记客户服务	/