4AF405 抗体标记试剂盒
4AF405-Antibody conjugation Kit

目录号	规格	规格说明
APL010-100	100μg	可标记 1 次 100μg 抗体
APL010-300	3x100μg	可标记 3 次 100μg 抗体
APL010-500	5x100μg	可标记 5 次 100μg 抗体

相关介绍：

4AF405 抗体标记试剂盒包含快速标记抗体的所有组分。标记过程只需按照比例将抗体和染料简单混合于 EP 管中，进行短时间的孵育即可。标记结束不再反应，因此无需进一步纯化步骤。标记后，约 4-6 分子的染料与 1 分子抗体共价结合。本试剂盒标记的抗体可以用于多色荧光染色，而不会发生抗体间的染料转移现象。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。

储存条件：-20℃避光保存

有 效 期：-20℃避光保存至少 3 个月

试剂盒组份：

编号	组份	APL010-100	APL010-300	APL010-500	储存温度
		数量	数量	数量	
A	4AF405 Dye	1 支	3 支	5 支	-20℃；避光
B	4AF405 antibody storage buffer	1 支	3 支	5 支	2-8℃
C	UItrafiltration vial(MWCO=10K)	1 支	3 支	5 支	RT
D	EP 管(用于抗体和染料反应)	1 支	3 支	5 支	RT
E	避光螺帽管(用于存放标记后抗体)	1 支	3 支	5 支	RT

注意事项

1）4AF405 抗体标记试剂盒适用于标记抗体，不建议标记其他蛋白质。

2）4AF405 标记不能用于标记天然抗血清或杂交瘤细胞株培养上清液。

3）为获得最优的标记结果，抗体中不宜含有稳定剂，标准的标记步骤可以兼容低浓度的明胶、Tris、甘油和叠氮化钠。

4）对于标准的标记步骤（B），根据需要标记的抗体量选择试剂盒的规格。

5）标记要求的最佳抗体浓度为 0.5-1 mg/mL，如抗体浓度低于 0.5mg/mL，本试剂盒配备的超滤管可用于浓

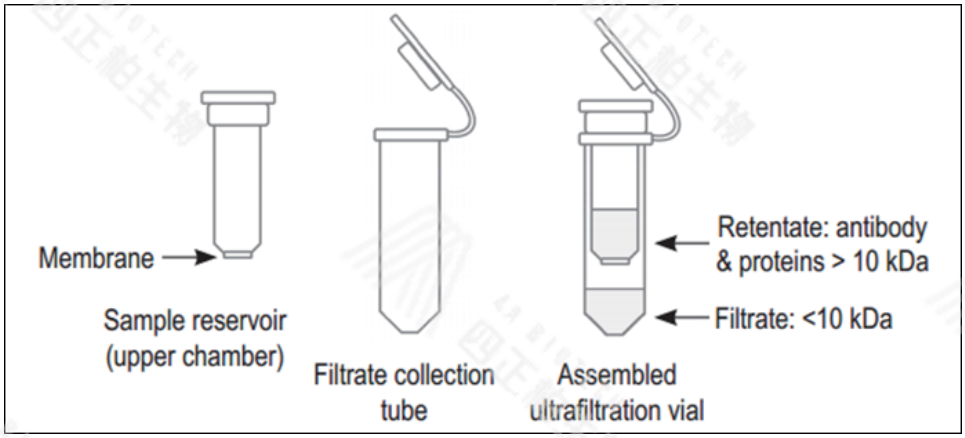
缩抗体。

试剂盒操作流程

A.超滤浓缩步骤（选做）

本步骤适用于抗体浓度远低于 0.5mg/mL 时或抗体中含有干扰标记的组分时；

本试剂盒配备的超滤管由两部分组成，上端为截留膜，下端为过滤收集管。其中截留膜截留分子量为 10kDa，因此小于 10 kDa 的分子将穿过膜进入过滤收集管，而分子大于 10 kDa 的抗体，将保留在膜上（如下图）；



在浓缩结束前，避免用枪头触碰膜，该操作可能造成膜的破裂，导致抗体损失；

超滤管单次可处理最大样本体积为 500μL，最终浓缩体积为 15μL，超滤管可承受的最大转速为 10000xg（固定转子），超出该转速将造成膜破裂，导致抗体损失；

1. 从标记试剂盒中取出**编号为 C 的超滤管**，添加待浓缩的抗体至超滤管上端截留膜中，9000xg 离心 1 分钟，检查有多少液体过滤至底部滤液收集管（下方）。重复离心操作直至所有液体全部收集到底部过滤收集管。

2. 如仅需浓缩抗体，直接进行第 3 步。如需对抗体进行缓冲液置换，加入等体积 PBS 至超滤管膜中，9000xg 离心直至液体过滤进入底部滤液收集管。

3. 添加适当体积的 PBS 至超滤管膜使得最终的抗体浓度为 0.5-1mg/mL，在膜表面小心上下抽吸 PBS 以重悬抗体。

4. 将重悬的抗体转移至至干净的的离心管中。

B. 4AF405 标记步骤

1. 0.5-1 mg/mL 的抗体浓度为最佳标记浓度，如抗体为冻干形式，PBS 溶解抗体至该浓度范围，如抗体浓度较高， PBS 稀释抗体至该浓度范围。将需要标记的抗体转移到**编号为 D 的 EP 管**中。

2.将**编号为 A 的 4AF405** 和**编号为 B 的 4AF405 antibody storage buffer** 从试剂盒取出恢复室温。低速离心

使得以上两个组分中的溶液均集中至管底。（必要步骤）

3. 参考如下表格，根据待标记抗体的量，移取**编号为 A 的 4AF405** 至已装有抗体的**编号为 D 的含抗体 EP 管中**。移液器上下吹吸数下使得二者混合后涡旋数秒。

Antibody（待标记抗体的质量）	**4AF405（体积）**
20 μg	2 μL
50 μg	5 μL
100 μg	10μL

4. 室温避光孵育 60 分钟。

5. （选做）将抗体与 4AF405 的混合溶液转移到超滤管膜上，离心机 9000xg 离心，直至所有的液体过滤到接收器中先保留，实验结束后丢弃。添加适当体积的**编号为 B 的 4AF405 antibody storage buffer** 至超滤管膜中，在膜表面小心上下抽吸 PBS 以重悬抗体。（本步骤可以去除未反应的 4AF405。未反应的 4AF405 不会导致识别细胞表面抗原的抗体的非特异性，可以不操作本步骤；如果为识别胞内抗原的抗体建议操作本步骤。）

6. 用**编号为 B 的 4AF405 antibody storage buffer** 稀释步骤 4.得到的抗体溶液至所需浓度，并转移至**编号为 E 的避光螺帽管**中。此时抗体即标记完成，可直接用于染色，4AF 标记抗体的浓度约是起始抗体标记数量除以总体积。注意：4AF405 antibody storage buffer 包含稳定剂和防腐剂。

7. 将标记抗体 2-8℃避光存储（标记后存储时间与抗体本身的稳定性相关）。

种类	**Ex (nm)**	**Em (nm)**	**替代染料**
Biotin	NA	NA	NA
4AF405	406	434	Alexa Fluor 405
Pacific Blue	403	459	Alexa Fluor 450；Pacific Blue
Biotin	491	516	Alexa Fluor488，FITC
FITC	500	518	Alexa Fluor488
4AF647	656	670	Alexa Fluor 647，APC
4AF700	696	720	Alexa Fluor 700

相关产品

目录号	产品名称
APL005	4AF488-Antibody conjugation Kit / Biotin 抗体标记试剂盒
APL008	4AF647-Antibody conjugation Kit / 4AF647 抗体标记试剂盒
APL009	Biotin-Antibody conjugation Kit / Biotin 抗体标记试剂盒
APL010	4AF405-Antibody conjugation Kit / 4AF405 抗体标记试剂盒
APL011	4AF700-Antibody conjugation Kit / 4AF700 抗体标记试剂盒
APL012	FITC-Antibody conjugation Kit / FITC 抗体标记试剂盒
APL013	Pacific Blue-Antibody conjugation Kit / Pacific Blue 抗体标记试剂盒