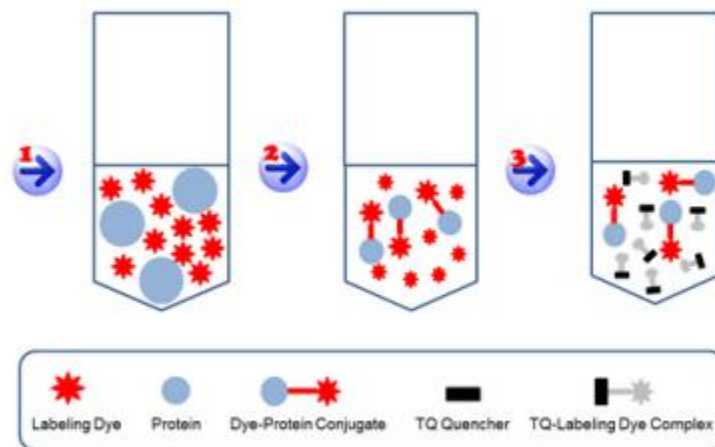


一种以微观方式标记抗体的试剂盒

——ReadiLink™抗体标记试剂盒

简介

ReadiLink™快速抗体标记试剂盒提供了一种以微观方式标记抗体的最便捷方法。该试剂盒仅需要两个简单的混合步骤而无需纯化步骤。试剂盒中使用的 iFluor™ 和 mFluor™ 染料的琥珀酰亚胺酯 (SE) 显示出与蛋白质的脂族胺的良好反应性和选择性, 并形成羧酰胺键, 其与天然肽键相同且稳定。iFluor™ 和 mFluor-抗体缀合物可用于免疫荧光染色, 荧光原位杂交, 流式细胞术和其他生物学应用。每个 ReadiLink™Rapid 抗体标记试剂盒都提供了进行两次偶联反应 (2x50 μg 蛋白质) 的所有必需成分。每个试剂盒可用于标记 50-100 μg 单克隆, 多克隆抗体或其他蛋白质 (> 10 kDa), 只需两个简单的混合步骤。



Readilink™快速试剂盒标记原理

1. 通过在反应缓冲液 (pH 7.5-8.5) 中将标记染料与蛋白质 (待标记的) 混合, 开始标记反应。
2. 孵育得到所需蛋白质缀合物和非反应性游离染料的混合物。

3. 通过将非荧光 Tide Quencher™ (TQ) 染料与反应溶液混合来淬灭反应。TQ 染料阻止反应并将非反应性自由标记染料转化为非荧光 TQ 标记染料复合物，这消除了游离标记染料的背景荧光干扰。

试剂盒组成

Components	Amount	Storage
Component A: Mitolite™Red	2 vial (one vial is for 50 ug protein)	-20°C
Component B: Live Cell Staining Buffer	1 vial (20uL)	-20°C
Component C: TQ™-Dyed Quench Buffer	1 vial (20uL)	-20°C

标准操作规程（标记 50 μg 蛋白质）

将所有组分加热并在打开前将样品瓶短暂离心，并在开始结合前立即准备所需的溶液。以下 SOP 是标记抗 HDAC IgG 抗体的实例。

1. 准备蛋白质溶液（溶液 A）：

为了标记 50 μg 蛋白质（假设目标蛋白质浓度为 1 mg / mL），将 5 μL（总反应体积的 10%）反应缓冲液（组分 B）与 50 μL 目标蛋白质溶液混合。

注 1. 如果蛋白质浓度不同，请相应调整蛋白质体积，使~50 μg 蛋白质可用于标记反应。

注 2：为了标记 100 μg 蛋白质（假设目标蛋白质浓度为 1 mg / mL），将 10 μL（总反应体积的 10%）反应缓冲液（组分 B）与 100 μL 目标蛋白质溶液混合。

注 3：蛋白质应溶解于 pH7.2-7.4 的 1X 磷酸盐缓冲盐水（PBS）中；如果蛋白质溶解在甘氨酸缓冲液中，必须用 1X PBS（pH 7.2-7.4）透析，或使用 Amicon Ultra-0.5, Ultracel-10 膜，10 kDa（来自 Millipore 的 cat # UFC501008）去除游离胺或铵盐（如硫酸铵和乙酸铵）。

注 4：用牛血清白蛋白（BSA）或明胶稳定的不纯抗体或抗体不能很好地标记。

注 5：如果蛋白质浓度低于 1 mg / mL，结合效率会显著降低。为获得最佳标记效率，建议最终蛋白质浓度范围为 1-2 mg / mL。

2.运行结合反应:

2.1 将蛋白质溶液（溶液 A）加入一小瓶标记染料（组分 A）中，通过反复移液几次将其充分混合，或将小瓶涡旋几秒钟。

注意：使用标记染料的两个小瓶（组分 A）通过将 100 μ g 蛋白质分成 2x50 μ g 蛋白质并使每个 50 μ g 蛋白质与一小瓶标记染料反应来标记 100 μ g 蛋白质。将两个小瓶合并用于下一步。

2.2 将缀合反应混合物在室温下保持 30-60 分钟。

注意：如果需要，可以旋转或摇动缀合反应混合物更长的时间。

3.停止共轭反应:

3.1 加入 5 μ L（50 μ g 蛋白质）或 10 μ L（100 μ g 蛋白质），这是 TQ 染色猝灭缓冲液（组分 C）总反应体积的 10%到共轭反应混合物中（来自步骤 2.2），混合。

3.2 在室温下孵育 10 分钟。

3.3 使用标记的蛋白质（抗体）。

蛋白质共轭物的储存

蛋白质缀合物应在载体蛋白（例如 0.1%牛血清白蛋白）存在下以 > 0.5mg / mL 储存。为了更长时间的储存，可以将蛋白质缀合物冻干或分成单次使用的等分试样并在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 下储存。

名称	货号	规格	价格
ReadiLink™ FITC 抗体标记试剂盒	1299	2 Labelings	1740
ReadiLink™ RPE 抗体标记试剂盒	1310	2 Labelings	5940
ReadiLink™ APC 抗体标记试剂盒	1311	2 Labelings	5940
ReadiLink™ PerCP 抗体标记试剂盒	1312	2 Labelings	3540
ReadiLink™ Cy7 抗体标记试剂盒	1294	2 Labelings	1740
ReadiLink™ mFluor™620 抗体标记试剂盒	1123	2 Labelings	1740
ReadiLink™ iFluor™488 抗体标记试剂盒	1255	2 Labelings	1740