

别藻蓝串联染料产品说明书

产品信息

产品货号	产品名称	规格	Ex/Em (nm)
QH-50-5009	APC-AF700	1mg/10mg/100mg/1g	650/710
QH-50-5010	APC-AF750	1mg/10mg/100mg/1g	650/780
QH-50-5011	APC-Cy7	1mg/10mg/100mg/1g	650/780

产品描述

异藻蓝蛋白（APC）是从螺旋藻中分离得到的一种藻胆蛋白。与其他藻胆蛋白一样，APC 表现出荧光特性，并具有高消光系数和量子产率。它可以通过常规蛋白质交联技术轻松连接到抗体和其他蛋白质，而不会改变其光谱特性。其在 633 nm 和 647 nm 处的强吸收使其及其串联物成为流式细胞术应用中与红色激光一起使用的最佳荧光团之一。

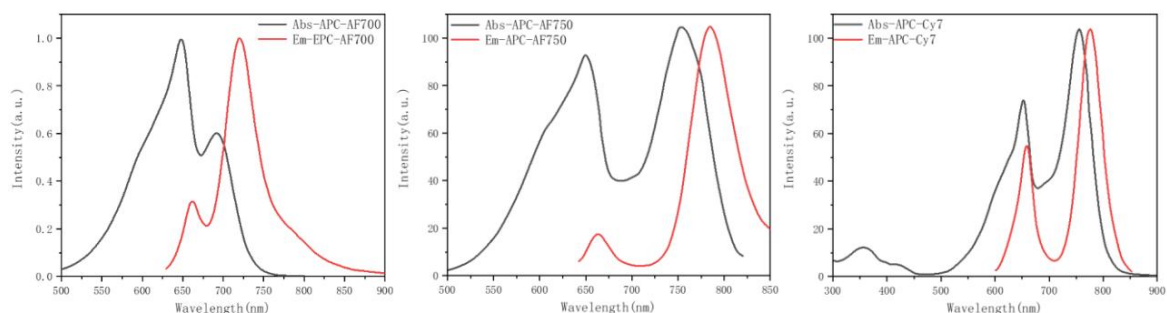
APC-AF700 与 APC-Alexa Fluor®700 串联染料具有相同的结构。其主要吸收峰位于 650 nm，发射峰位于 ~710 nm。

APC-Cy7 是流式细胞术多色分析的优选标记物。其主要吸收峰位于 651 nm，发射峰位于~780 nm。

APC-AF750 串联染料是常用 APC-Cy7 的绝佳替代品，具有更高的 FRET 效率和信号。其主要吸收峰位于 650 nm，发射峰位于~780nm。

【产品性质】

形态：溶液



【运输及储存】

储存条件：2-8℃ 避光保存，勿冷冻

稳定性：在适宜条件下至少可以储存 6 个月

【使用方法】

1. 抗体的修饰

- 抗体修饰试剂（DTT/TCEP）溶解于 ddH₂O 配制成 2 mg/mL 的抗体修饰液；
- 取待标记抗体（纯度>90%），用 PBS 缓冲液调整浓度到 5-10 mg/mL 左右，按照每 mg 抗体加入 10 μL 抗体修饰液，轻轻混匀，在室温下搅拌反应 60-90 分钟；
- 反应完成后，转移到超滤管内芯，并添加 MES 缓冲液，通过超滤管多次离心置换溶液去除多余抗体修饰试剂，超滤管内芯收集液为修饰完成的抗体，并调节浓度至 1-5 mg/mL。

2. 别藻蓝串联染料活化

- 别藻蓝串联染料用 0.1M PBS (pH=7.4, 5 mM EDTA) 溶解，浓度 5-10 mg/mL；
- 将 SMCC 溶解于无水二甲基亚砜（DMSO）配制成 10 mg/mL 的母液；
- 每 mg 的别藻蓝串联染料添加 5 μL 的 SMCC (n(别藻蓝串联染料): n(SMCC)=1:80)，铝箔封好后于室温旋转反应 1h，使别藻蓝串联染料分子上的氨基与琥珀酰胺反应生成衍生化的别藻蓝串联染料；
- 反应完成后，将反应液移至超滤离心管内，于 4℃、5 min、12000 g 下离心并除去滤液，再加入 500 μL MES 缓冲液混匀离心；重复此操作 5 次；
- 收集活化的别藻蓝串联染料溶液。

3. 活化的别藻蓝串联染料与抗体偶联

- 用 MES 缓冲液将活化的别藻蓝串联染料浓度调整为 5 mg/mL；为了获得活化的别藻蓝串联染料精确重量，我们建议使用 APC 的消光系数作为测量（即[别藻蓝串联染料] = $0.14999 \times A_{650}$ ，其中[别藻蓝串联染料]是以 mg/mL 为单位的浓度， A_{650} 为波长为 650 nm 时的吸光值，且控制范围在 0.3~0.8 即可）；
- 将修饰抗体与活化的别藻蓝串联染料按照质量比 1:1.3 比例（每 mg 修饰抗体对应 1.3 mg 活化的别藻蓝串联染料）混合，室温避光反应 2 小时；
- 将 NEM 溶解于无水二甲基亚砜（DMSO）配制成 12.5 mg/mL 溶液（0.1M），按照每毫克抗体 5 μL 的体积 NEM 溶液加入步骤 b 反应产物中，封闭未反应完的活性基团；
- 将步骤 c 溶液加入超滤管通过反复离心去除封闭试剂等；

e) 标记好的抗体分装，加入适当保护剂，-20 °C保存备用（避免反复冻融）。

注意事项

- 别藻蓝串联染料需要避光低温保存，标记过程尽量保证其避光；
- 封闭剂与修饰剂需现用现配，不能长期保存；
- 标记的抗体特异性要高，纯度不低于 90%，最好使用单克隆抗体，溶液环境不含游离氨基，最好为 PBS 溶液； 标记前抗体需去除 NaN_3 和 BSA，抗体的透析、浓缩和浓度测定等操作都会造成抗体量的损失，因此标记前准备抗体时需根据具体情况考虑最适的抗体量；
- 由于抗体修饰后所带的基团容易被重新氧化，因此修饰后抗体需尽快进行偶联。