

Super-n-stain® Antibody Labeling Kits (抗体标记试剂盒)

产品介绍

Super-n-stain®抗体标记试剂盒包含 YF 染料或生物素迅速标记抗体的所有组分。标记过程只需将抗体和染料在缓冲液中混合并短时间孵育，由于染料在标记结束时不再反应，因此无需纯化。标记后，约 4-6 个染料分子与 1 个抗体分子共价结合，可直接用于多色荧光染色且不会发生染料转移。

该试剂盒兼容 NaN_3 、低浓度甘油、Tris 和甘氨酸，并内置微型超滤离心管，以在标记前快速去除不兼容的小分子稳定剂。

在试剂盒选择上，标准标记步骤适用于 BSA 或明胶量少于 IgG (μg) 4 倍的样品，依据待标记的 IgG 量选择规格。优化标记步骤则适用于稳定蛋白过剩、腹水或低浓度 IgG 样品（可通过添加稳定剂蛋白以达到标记范围），此时应依据总蛋白量（IgG+稳定剂，或腹水中总蛋白量）选择规格。但优化步骤不建议用于抗体比例极低的天然抗血清或杂交瘤细胞株培养上清液。

在实际应用中，荧光标记抗体直接免疫荧光染色信号约为间接法检测（一抗加标记二抗）的三分之一，因此直接染色时可能需要提高抗体浓度。此外，标记二抗仍可以连接到使用 Super-n-stain®试剂盒标记的一抗上，若多色免疫荧光中混用同物种抗体，二抗将无法区分一抗是否标记。该试剂盒标记的抗体也可作为传统间接检测后的三级染色。

本公司还提供生物素 Super-n-stain®标记试剂盒、二次检测使用的 YF 荧光染料标记的链霉亲和素或荧光蛋白标记的试剂盒（详情请访问 www.uelandy.com）。更多信息，请参见下述常见问题。

应用范围

抗体标记

产品货号

S6011S/S6011M/S6011L

储运条件

-20°C 干燥避光，有效期见外包装；冰袋运输。

产品内容

组分	S6011S (5-20 μg)	S6011M (20-50 μg)	S6011L (50-100 μg)
A: Dye vial	1 vial	1 vial	1 vial
B: Super-n-stain® reaction buffer, 10×	1 vial of 15 μL	1 vial of 15 μL	1 vial of 30 μL
C: Super-n-stain® antibody storage buffer	1 vial of 60 μL	1 vial of 150 μL	1 vial of 300 μL
D: Ultrafiltration vial (MWCO=10 kDa)	1 each	1 each	1 each

染料信息

Super-n-stain® Antibody Labeling Kit			货号		
Label Dye	Ex (nm)	Em (nm)	1 × (5-20 μg)	1 × (20-50 μg)	1 × (50-100 μg)
Biotin	N/A	N/A	S601101S	S601101M	S601101L
FITC	494	518	S601102S	S601102M	S601102L
YF®350 SE	349	448	S601103S	S601103M	S601103L
YF®405S SE	399	421	S601104S	S601104M	S601104L
LS405 SE	407	448	S601105S	S601105M	S601105L
YF®488(6) -2 SE	491	512	S601106S	S601106M	S601106L
YF®532 SE	523	545	S601107S	S601107M	S601107L
YF®555 SE	550	561	S601121S	S601121M	S601121L
YF®568 SE	573	595	S601108S	S601108M	S601108L
YF®594 SE	585	609	S601109S	S601109M	S601109L
YF®640 SE	641	658	S601112S	S601112M	S601112L
YF®647A SE	648	664	S601113S	S601113M	S601113L
YF®660 SE	661	679	S601114S	S601114M	S601114L
YF®488(5) SE	490	515	S601116S	S601116M	S601116L
YF®488(5) -P ₄ SE	490	515	S601117S	S601117M	S601117L
YF®488(6) -X SE	490	515	S601118S	S601118M	S601118L
YF®750 SE	747	770	S601120S	S601120M	S601120L

注意事项

- 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。
- 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

1、准备工作

Super-n-stain®抗体标记试剂盒仅适合标记IgG，不建议用于IgM或其他蛋白质，否则可能导致抗体变性或改变标记效率（Degree of Labeling, DOL）。实验前应联系供应商确认商业一抗的浓度与配方，且本试剂盒不能用于标记天然抗血清或杂交瘤细胞株培养上清液。若样品不符，需先使用商业试剂盒（如Pierce Antibody Clean-Up Kit）纯化出IgG。

表1为Super-n-stain®抗体兼容性和标记步骤选择指南。不含稳定剂的抗体溶液标记效果最佳。标准步骤（B）兼容 NaN_3 以及低浓度BSA、明胶、Tris和甘油，应依据IgG的 μg 数选择试剂盒规格。优化步骤（C）则基于总蛋白量设计，适用于高浓度稳定蛋白、溶液抗体或低浓度IgG样

品（可通过补加稳定剂蛋白以达到标记范围），需提前通过280 nm吸光度测定总蛋白量以选择规格。

若抗体中含有BSA或明胶，染色背景可能略高，在封闭和清洗液中加入1% BSA或明胶可有效降低背景。试剂盒内置的超滤管可用于去除Tris、甘氨酸或甘油等非蛋白成分，也可用于将抗体浓缩至最适的0.5-1 mg/mL浓度（注意：稳定剂蛋白也会被同时浓缩）。若无需去除成分或浓缩抗体，直接按标准步骤（B）或优化步骤（C）操作即可。

表1. Super-n-stain®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）
BSA或明胶	≤4 倍IgG μg数：标准步骤（部分B） >4 倍IgG μg数：优化步骤（部分C）
腹水	优化步骤（部分C）
血清	不兼容：纯化IgG
杂交瘤细胞株培养上清液	不兼容：纯化IgG

A. 超滤步骤

重要：在实验开始之前，请对照表1确定抗体在标记前是否需要超滤。如果有必要，联系商业抗体厂家了解IgG和抗体稳定剂的浓度。如果抗体不需要超滤，根据表1选择合适的标记步骤。超滤膜截留分子量为10 kDa，因此，小于10 kDa将可以通过膜，分子大于10 kDa的（包括IgG）将保留在膜上（图1）。

注：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 μL

滤液接收器体积：500 μL 滞留体积（膜/支持）：< 5 μL

- 添加适量的抗体至超滤管膜中，小心不要触碰膜。14000 g微型离心机离心1 min，检查有多少液体过滤至滤液收集管（下方）。重复以上操作直到所有液体全部收集到过滤收集管。去除收集管中的液体。
- 对于浓缩抗体，进行第3步。对于纯化，加入等体积1× PBS至超滤管膜中。14000 g微型离心机离心直至液体过滤进入滤液接收管。
- 添加适当体积的1× PBS至超滤管膜使得最终的抗体浓度为0.5-1 mg/mL，在膜表面小心上下抽吸PBS以重悬抗体。
- 转移回收的抗体溶液至新离心管中。
- 如果使用优化标记步骤，保存超滤管来浓缩标记后的抗体。

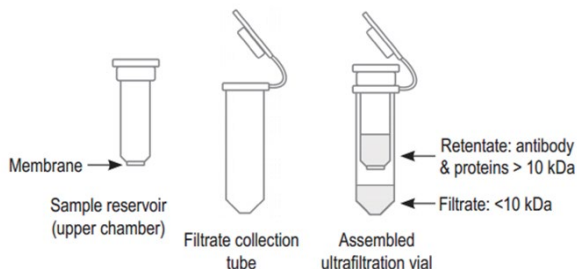


图1. 超滤管组成

B. 标准的Super-n-stain® 标记步骤

重要：在实验开始之前，请对照表1确定抗体组成和浓度是否适用Super-n-stain®标记，以及适合选择的标记步骤。如果有必要，联系商业抗体厂家了解抗体IgG和抗体稳定剂的浓度。

- 抗体浓度0.5-1 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PBS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IgG的μg数匹配试剂盒的标记范围。
- Super-n-stain®反应缓冲液和Super-n-stain®存储缓冲液恢复室温。短暂离心试剂管将液体集中到底部。
- 以1:10混合10× Super-n-stain®反应缓冲液与抗体，使抗体溶液最终形成1×反应缓冲液（例如9 μL的抗体加1 μL 10×反应缓冲液）。移液器上下吹吸混合。
- 将上步的溶液全部转移至YF染料管中，这里不需要检测管中染料含量，涡旋几秒钟。
- 室温避光孵育30 min。
- 用存储缓冲液稀释标记的抗体，将全部标记抗体溶液转移到存储缓冲液中，抗体现在就可以直接用于染色，YF标记抗体的浓度大约是起始抗体标记数量除以总体积。
- 标记抗体4°C避光至少可以稳定存储6个月，此外，可以将抗体分装成多份小包装在-20°C长期储存。

注意：如果不使用抗体稀释缓冲液，可以将溶液分装成多份小包装-20°C储存，避免反复冻融，标记抗体至少可以稳定储存6个月。

C. Super-n-stain®优化标记步骤

重要：在实验开始之前，请对照表1确定抗体组成和浓度是否适用Super-n-stain®标记，以及适合选择的标记步骤。如果有必要，联系商业抗体厂家了解抗体IgG和抗体稳定剂的浓度。

- 蛋白（IgG和稳定剂蛋白）浓度0.5-1 mg/mL是较合适的标记浓度，如果需要，用PBS溶解或稀释。确保蛋白的μg总量匹配试剂盒的标记范围，如果待标记的IgG少于试剂盒的最低标记量，加入BSA使BSA和IgG的蛋白总量适配试剂盒。
- Super-n-stain®反应缓冲液和Super-n-stain®存储缓冲液恢复室温。短暂离心试剂管将液体集中到底部。
- 以1:10混合10× Super-n-stain®反应缓冲液与抗体，使抗体溶液最终形成1×反应缓冲液（例如9 μL的抗体加1 μL 10×反应缓冲液）。移液器上下吹吸混合。
- 将上步的溶液全部转移至YF染料管中，这里不需要检测管中染料含量，涡旋几秒钟。
- 室温避光孵育30 min。
- （可选）将全部标记抗体溶液转移到试剂盒的存储缓冲液中，但这会使得IgG溶液被稀释，不利于后续实验，将抗体转移到存储缓冲液，不进行额外稀释，按照下面的步骤操作。
- 标记反应转移到超滤管膜上（或是之前抗体纯化使用后保存的超滤管中），离心机14000 g离心直到所有的液体过滤到接收管中。
- 添加适当体积的抗体储存液至超滤管膜，在膜表面小心上下抽吸PBS以重悬抗体。
- 转移回收的抗体溶液至新管中。抗体可以直接用于染色。
- 标记抗体4°C避光至少可以稳定存储6个月，此外，可以将抗体分装成多份小包装在-20°C长期储存。

FAQ

Super-n-stain®抗体标记试剂盒常见问题

问题	解答
实验过程中没有纯化步骤，我如何将未标记上的荧光染料除去？	该问题描述了本产品研发的关键因素，UElancy独特的染料、缓冲液组分以及完善的标记策略已经完美地解决了这个问题，具体机制涉及专利保护，不便透露。
Super-n-stain®试剂盒可用于多色免疫标记吗，不同抗体间是否会发生染料转移？	Super-n-stain®试剂盒抗体与染料是共价结合方式，不存在染料扩散和转移现象。详细信息请参照上面产品说明部分。
Super-n-stain®试剂盒可用于标记抗体以外的蛋白吗？	该试剂盒是针对IgG抗体标记优化设计的，不推荐用于标记其它蛋白。Super-n-stain®标记条件可能会导致IgM变性。
Super-n-stain®试剂盒标记一抗和二抗的灵敏度是否一样？	直接免疫荧光检测信号会弱于间接检测，详细信息请参照上面产品说明部分。
用标记二抗的间接标记相比，直接标记复合物有哪些优势？	直接免疫染色避免了二抗孵育和清洗的步骤，容许来自同一物种的多个抗体同时使用进行多色检测，可以使用来自同一物种的抗体进行动物组织染色，从而避免了二抗的交叉反应。
Super-n-stain®试剂盒与Invitrogen's Zenon抗体标记试剂盒相比，有哪些优势？	主要优势： 1. YF染料与抗体共价结合避免了多重染色时染料转移和扩散现象； 2. Super-n-stain®复合物在储液中可稳定保存几个月之久，而Zenon标记物必须在30 min内使用； 3. Super-n-stain®复合物体积更小些，因为染料直接与抗体结合，而Zenon复合物与抗体片段配合使用； 4. 无需进行YF染料与标记蛋白的比例优化，直接混合、染色即可； 5. 无需进行后染固定； 6. 没有种属特异性
Super-n-stain®试剂盒与Innova Bioscience Lightning-link快速抗体标记试剂盒相比，有哪些优势？	Super-n-stain®试剂盒使用荧光更亮、光稳定性更好的YF染料，试剂盒规格更灵活，可提供至单个抗体标记反应。
什么是YF染料？	YF染料是一种水溶性较好、用于标记蛋白和核酸的小分子有机染料。UElancy可提供多达20种的此类YF染料。
Super-n-stain®试剂盒如何选择？	每种YF染料，UElancy都提供三种不同抗体标记量的试剂盒，分别是：5-20 µg, 20-50 µg, 50-100 µg。对于没有稳定剂的抗体标记，根据抗体规格，选择其中一种即可，含有稳定剂的抗体标记，请参考表1。

若待标记抗体总量适用两种Super-n-stain®试剂盒，我应如何选择？例如：标记50 µg抗体，我应购买50-100 µg 抗体标记试剂盒还是20-50 µg的试剂盒？	遇到这种情况，两种规格都可以得到较好的结果，使用较小规格的效果更好。
如何选择染料与蛋白的比例获得较好的标记效果？	如果待标记抗体量在试剂盒范围内，无需改变染料量或反应时间，因为Super-n-stain®试剂盒中染料和反应缓冲液可以确保较好的标记效果。
我可以拆分试剂盒组分，以便多次使用吗？	不行，因为Super-n-stain®试剂盒已经优化至一个标记单位，不建议拆分试剂盒以标记多个抗体或多次使用。
抗体浓度是否影响标记效率？	Super-n-stain®试剂盒较好的标记抗体浓度为0.5-1 mg/mL，可通过浓缩或稀释使待标记抗体达到上述浓度范围，小于或超过该浓度范围，会导致标记效率过低或过多。
使用标记后的抗体进行免疫荧光染色未观察到荧光信号？	使用标记后的抗体进行免疫荧光染色未观察到荧光信号与供应商联系，确保抗体组分、浓度在容许范围内。
使用标记后的抗体进行免疫荧光染色未观察到荧光信号怎么办？	与供应商联系，确保抗体组分、浓度在容许范围内。在直接标记前，应确定用于间接标记的一抗的敏感性和特异性。为了得到与间接标记相同的信号强度，直接标记时需要使用更高浓度的一抗，更多信息请参考产品应用部分。共价标记可能会影响某些抗体的反应活性。可以通过实验确定是否是这一因素的原因，即使用 Super-n-stain®标记的一抗和荧光标记的二抗进行间接免疫染色，以确定 Super-n-stain®标记后的一抗是否仍具有反应活性。如果有兼容YF染料的激发/发射波长的荧光读胶仪或扫描仪，可以通过SDS-PAGE电泳确定抗体是否标记上染料，取 0.1-0.5 µg 标记抗体进行变性SDS-PAGE 电泳，然后进行凝胶拍照，应该可以观察到IgG的55 kDa的重链和25 kDa的轻链对应的两条荧光条带。

相关产品

详细货号见上述染料信息表。