



Labeled Rabbit Anti-Goat IgG (H+L) Antibodies

——荧光标记兔抗羊 IgG (H+L) 抗体

产品货号	标记物	规格
L112A	Andy Fluor 488	100 µg
L112B	Andy Fluor 488	500 µg

储存条件：2-8℃，避光保存。

产品说明书

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼
邮编：510663
电话：4006-020-200
邮箱：sales@igenebio.com
网址：www.abpbio.com www.igenebio.com

© 2015 GeneCopoeia, Inc.

Labeled Rabbit Anti-Goat IgG (H+L) Antibodies

产品列表:

产品货号	标记物	激发波长	发射波长	规格
L112A	Andy Fluor 488	495 nm	520 nm	100 µg
L112B	Andy Fluor 488	495 nm	520 nm	500 µg

产品介绍

荧光标记二抗作为免疫荧光检测的常规试剂，可广泛应用于荧光显微镜，共聚焦荧光扫描显微镜，流式细胞仪，以及 western-blot 检测。Applied BioProbes 公司推出的一系列 Andy Fluor 标记二抗具有荧光信号强，光稳定性好，背景低等优点，为广大科研用户提供多种颜色荧光标记二抗的选择。

Applied BioProbes 公司采用高效价的二抗结合公司优化的标记技术确保每个抗体分子标记 2~8 个荧光基团。荧光标记二抗经过严格 QC，保证抗体中不含游离的染料，产品具有很高的灵敏度，及很低的非特异性染色。

产品规格

产品形态：冻干粉

缓冲液：PBS，pH 值 7.4

稳定剂：0.1%BSA

防腐剂：0.02%叠氮钠

溶解与贮存：冻干粉于 2-8 °C，避光保存。准备使用时，用蒸馏水溶解产品（即 100 微克抗体加 50 微升蒸馏水或 500 微克抗体加 250 微升蒸馏水）制成 2 mg/ml 的储存液。轻柔混匀，如有沉淀离心去除。未经稀释的储存液在 2~8°C 可稳定保存 6 个月。若要长期保存，添加等体积的甘油，并在 -20 °C 存储。每次使用当天新鲜配制的稀释液。

注意事项

- 对于微量的液体，每次使用前先离心数秒钟，使液体充分沉降到管底。
- 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

常规实验操作参考

使用前，抗体储存液做离心处理，取上清做实验。这一步主要是为了去除抗体储存过程中可能形成的沉淀物而造成非特异性染色的后果。根据不同的实验目的，采用不同的染色方法，抗体稀释比例需要做相应的调整。一般来说，对于荧光素和生物素标记的二体，1~10 µg/ml 的终浓度应该适用于大部分的免疫组织化学应用。在流式细胞术方面的应用，建议每 1×10^6 个细胞使用 0.06~1.0 µg 的抗体。

荧光显微镜观察实验步骤

免疫组化有很多种方法，以下的实验操作步骤适用于常规的免疫组化染色。对一些特殊的免疫组化染色，需要进行条件优化，以获得最佳的实验效果。

1 贴壁细胞的细胞爬片制备

- 1.1 使用无菌的盖玻片培养细胞，推荐使用 18×18 mm 的盖玻片，置于 6 孔细胞培养板。
- 1.2 等细胞在玻片上生长到一定阶段，根据实验要求对细胞进行处理。
- 1.3 用 PBS 轻柔地冲洗细胞。

2 非贴壁细胞的细胞爬片制备

- 2.1 盖玻片先用 0.01% 多聚赖氨酸溶液在室温下浸泡 10 分钟。
- 2.2 移除 0.01% 多聚赖氨酸溶液，让盖玻片自然风干。
- 2.3 离心沉淀细胞，然后用 PBS 重悬细胞，并将细胞悬液转移到盖玻片上。
- 2.4 室温孵育 30~60 分钟。在显微镜下观察细胞贴壁情况。

3 细胞固定及染色

- 3.1 将细胞生长的盖玻片用含 4% 多聚甲醛的 PBS 缓冲液固定 15 分钟。
- 3.2 移除细胞固定液，并用 PBS 洗涤细胞三次。
- 3.3 用含 0.1~0.5% Triton X-100 的 PBS 缓冲液进行细胞透膜处理 5~10 分钟。
- 3.4 移除细胞通透液，加细胞封闭液（含 5% BSA 或山羊血清的 PBS），在室温下孵育 30 分钟。
- 3.5 移除细胞封闭液，加入适量的一抗稀释液进行孵育，一抗稀释比例及孵育条件参考产家的使用说明。抗体的使用量以覆盖所有细胞为准，一般 150-200 μL 足够覆盖整个区域。孵育时，可以用盖玻片封盖或者放置湿度的培养箱防止抗体稀释液挥发。
- 3.6 移除一抗稀释液，并用 PBS 洗涤细胞三次，每次 5 分钟。
- 3.7 加入适量的二抗稀释液，室温避光孵育 1 小时。一般来说，二抗的稀释浓度在 1~10 $\mu\text{g/ml}$ 之间可以满足大部分免疫组化实验。建议设置一组不加一抗的细胞作为空白对照组。
- 3.8 移除二抗稀释液，并用 PBS 洗涤细胞三次，每次 5 分钟。
- 3.9 根据实验要求进行细胞复染实验，比如细胞核或细胞骨架的复染实验。
- 3.10 在一张干净的载玻片上加适量体积的抗荧光淬灭封片液，将含细胞的盖玻片一面朝下小心地铺到载玻片上，确保抗荧光淬灭封片液均匀覆盖整张盖玻片，不含气泡，盖玻片四周用指甲油密封。
- 3.11 选择合适的激发光源和滤光片在荧光显微镜下观察并照相。也可将载玻片置于 4°C 避光保存，便于以后进行显微镜观察。

流式细胞仪观察实验步骤

免疫组化流式实验有很多种方法，以下的实验操作步骤可以作为常规操作的参考。客户需要对自己特定的实验要求进行优化设计。

1. 在 12×75 mm 的流式管中准备 1×10^6 细胞悬液。
2. 按以上的方法对细胞进行固定和透膜处理。
3. 加入适量的一抗稀释液进行孵育，一抗稀释比例及孵育条件参考产家的使用说明。
4. 离心去上清，用 2~3 ml PBS 缓冲液或其它洗涤液洗涤细胞两次。
5. 弃掉上清，用适量的缓冲液重悬细胞。
6. 加入适量的荧光标记二抗稀释液，室温避光孵育 20~30 分钟。一般来说，二抗的稀释浓度在 1~10 $\mu\text{g/ml}$ 之间可以满足大部分免疫组化实验。
7. 加 2~3 ml PBS 缓冲液或其它洗涤液，离心去上清，重复两次。
8. 用 0.5 ml 的缓冲液重悬细胞，并用流式细胞仪进行分析。选择合适的通道采集数据。

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼
邮编：510663
电话：4006-020-200
邮箱：sales@igenebio.com
网址：www.abpbio.com www.igenebio.com