

异硫氰酸荧光素酯 FITC

产品信息

产品名称	编号	规格
FITC	DY20109	100mg

产品描述

FITC 是一种有机荧光染料，最大吸收光波长为 490~495nm，最大发射光波长为 520~530nm，呈现明亮的黄绿色荧光。FITC 具有高吸收率、优良的荧光量子产率和良好的水溶性等特点，是生物学中应用最为广泛的一种绿色荧光素衍生物。FITC 是生化试剂，也是医学诊断药物，主要用于荧光抗体技术中的荧光染料，能和各种抗体蛋白结合，结合后的抗体不丧失与一定抗原结合的特异性，并在碱性溶液中具有强烈的绿色荧光。用于医学，农学和畜牧等方面，可对由地细菌病毒和寄生虫等所致疾病进行快速诊断。

保存方式

2-8℃保存，有效期 2 年。

产品性质

CAS : 3326-32-7

分子式 : C₂₁H₁₁NO₅S

分子量 : 389.38

性状 : 橘黄色粉末

溶解性 : 5mg/ml DMSO

纯度 : ≥90%(HPLC)

操作说明

标记蛋白

1) 制备溶于 0.1 M 碳酸钠缓冲液 (pH 9) 的待交联蛋白样品，浓度≥2 mg/mL。

注意：a) 勿将碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液存放于 0-5℃超过 1 周，其 pH 值会发生变化，建议现配现用。

b) 待标记的蛋白必须是未被污染蛋白，且溶解蛋白的缓冲液里不能含有叠氮钠或胺类试剂，如 Tris、甘氨酸，因为这些试剂会抑制标记反应。如果缓冲液里含有上述试剂，则需将该蛋白溶液在 4℃下于 PBS，pH 7.4 透析过夜；透析过程中如果 pH 值过高 (> 8.0-8.5) 会损害某些蛋白。

2) 溶解 FITC 于无水 DMSO 配制成浓度为 1 mg/mL 的溶液。于标记实验前新鲜配置 FITC 溶液，避光。

3) 对于 1 mL 蛋白溶液加入 50 μL FITC 溶液，可按照每次 5 μL 的量边加边轻轻搅拌蛋白溶液；

4) 待所需 FITC 加入完毕，将反应液于 4℃避光孵育 8 h；

5) 加入 NH₄Cl 使其终浓度至 50 mM，4℃终止反应 2 h；

6) 加入二甲苯青至浓度 0.1%，甘油至浓度 5%；

7) 通过大小孔径合适的凝胶过滤层析分离排除未被结合的 FITC，分离范围在 20,000 至 50,000 (球蛋白例如抗体)。待凝胶柱平衡后，将以上反应混合液从柱顶注入，打开凝胶柱，待其全部流入柱床后，加入 PBS 缓冲液。此时，可以形

成两条带：a，快速移动带，也就是 FITC-蛋白偶联物，先被洗脱，通常于室内光下可看到；b，慢速移动带，也就是未结合蛋白的 FITC 和二甲苯青。仅仅在 PBS 缓冲液清洗后被洗脱出来。

8) 于 4℃ 避光储存上述偶联物，加入 0.1% (w/v) 叠氮化钠作为一种防腐剂。若蛋白浓度较低 (< 1 mg/mL)，可加入 1% BSA 作为一种蛋白稳定剂。

9) 偶联物中荧光素和蛋白的比值 (F/P) 可通过测定 495 nm 和 280 nm 处的吸光值来鉴定，F/P 应位于 0.3-1.0。小于该比例则信号太低，高于该比例则背景太高。

本产品仅作科研用途