

FlexAble Oligo-Ready抗体标记试剂盒

常见问题解答

1. 一个FlexLinker可以接几条寡核苷酸？

我们提供2种FlexLinker类型：1×Oligo-Ready的FlexLinker和2×Oligo-Ready的FlexLinker。1×Oligo-Ready的FlexLinker可偶联1个寡核苷酸，然后再与抗体结合。2×Oligo-Ready的FlexLinker理论上可偶联2个寡核苷酸，但值得注意的是，2×Oligo-Ready连接产物中，连接体的DOL值会在1至2之间，具体数值取决于连接效率。如有特殊需求（如5个Oligos），我们可提供相应的定制服务。

2. 哪些抗体可以用这套试剂盒标记？

FlexAble Oligo-Ready抗体标记试剂盒几乎适用任何抗体。FlexAble标记方案不限抗体浓度，不限抗体缓冲液体系，兼容绝大多数供应商抗体，且标记之前无需进行抗体换液或纯化操作。

3. 还需要额外试剂或耗材吗？

需要。基础FlexAble Oligo-Ready抗体偶联试剂盒不包含Ni²⁺ beads、咪唑、脱盐柱等，需要自行准备。请参考该产品官网上的表格（包含和不含试剂表）或说明书手册。每个章节都为您列出所需组份的详细信息，基本都是实验室常备试剂和耗材。

4. 这套试剂盒最低可标记多少抗体？

该试剂盒单次反应可标记低至0.5 μg的一抗。在制备好带有Oligo标记的FlexLinker后，您可以使用此产品对总共100 μg的一抗进行标记。每次反应最低只需0.5 μg的一抗，这样您就能最大限度地灵活标记少量抗体（每套试剂盒最多可完成200次0.5 μg抗体标记）。

5. 如何扩大或缩小反应规模？

中间产物（Oligo-FlexLinker）：将目的oligo偶联到Oligo-Ready FlexLinker上；我们的100 μg试剂盒可用于生成多达3种不同的Oligo-FlexLinker（中间产物）。可根据实验需求灵活调整，偶联物可以从3×33 μg的FlexLinker扩展到1×100 μg的FlexLinker。

抗体的最终标记：使用Oligo-FlexLinker对一抗进行标记；标记量以0.5 μg一抗为最小反应单位，可按0.5 μg的倍数进行扩增。使用100 μg的试剂盒，一次反应可标记最多100 μg的抗体，也可以分成在200次小反应中标记200种不同的抗体（每次反应0.5 μg抗体）。

6. 这套试剂盒能否制备超过3种不同的Oligo-FlexLinker？

不推荐制备超过3种Oligo-FlexLinker。我们的实验方案经过验证和优化，100 μg试剂盒可用于生成最多3种不同的Oligo-FlexLinker（中间产物）。该100 μg试剂盒制备Oligo-FlexLinker（中间产物）时需要至少5 nmol的Oligo与33 μg的Oligo-Ready FlexLinker进行偶联（即制备3种Oligo-FlexLinker），若使用量再减少会显著降低效率与得率。

7. 偶联完成后需要纯化吗？

抗体与Oligo-FlexLinker完成最终偶联后，不需要纯化。剩余游离的FlexLinker已被试剂盒提供的FlexQuencher中和；该方案的中间步骤还包含从FlexLinker中去除游离寡核苷酸的清除步骤。

8. 如何确认偶联成功？

建议在偶联过程中取样。SDS-PAGE可以估计Oligo-FlexLinker的偶联效率和产率；常规紫外分光光度法会因寡核苷酸的干扰而使测量数据不准确，因此建议使用BCA法对制备的Oligo-FlexLinker进行产品浓度测定。

9. 产物的稳定性如何？如何储存？

Oligo-FlexLinker：Oligo与FlexLinker偶联后（中间产物）稳定性好，可在-20°C条件下保存长达6个月，或在-80°C条件下保存长达2年。

最终标记抗体：用Oligo-FlexLinker标记一抗后，复合物的稳定性很大程度取决于所标记的抗体。我们建议现标现用，标记过程只需要15分钟；如果您需要将标记的抗体储存更长时间，建议在储存后进行实验前先验证活性以确保其正常功能。

10. 不同oligo适用于FlexAble Oligo-Ready试剂盒吗？

FlexAble Oligo-Ready试剂盒兼容不同长度和类型的oligo。

11. 该试剂盒中的FlexLinker，FlexQuencher和FlexBuffer是什么？

该试剂盒中的FlexLinker可与oligo偶联，制备Oligo-FlexLinker的中间产物，并最终将Oligo-FlexLinker连接到一抗，制备Oligo标记抗体。FlexQuencher用于中和多余的Oligo-FlexLinker。FlexBuffer是一个基于PBS的缓冲液。

12. 需要去除未结合的FlexLinker吗？

不需要。未结合的Oligo-FlexLinker通过添加FlexQuencher来封闭中和，在标记过程中不需要额外的去除步骤（例如，超滤）。

13. 如果在多重检测过程中使用来自同一种属的两种FlexAble标记抗体，是否存在交叉串色或者脱靶现象？

FlexAble产品用高亲和力的FlexLinker标记一抗，FlexLinker从一种抗体解离再结合到另一种抗体的概率极低。若仍发现串色，建议添加更多的FlexQuencher来中和从而去除游离的FlexLinker，或对标记后的抗体进行分开孵育。

14. FlexAble Antibody Labeling Kit for Mouse IgG1是否适用于其他小鼠亚型一抗？

不适用。该试剂盒为亚型特异性，仅识别Mouse IgG1的一抗。

15. 怎样做能减少背景？

可以减少FlexQuencher的用量或增加染色后的洗涤次数。

16. 使用的一抗浓度上限是多少？

对一抗浓度上限没有要求。若一抗浓度很高，导致移液体积过小，可将抗体在PBS缓冲液中稀释至0.5-1 mg/mL后再取用。

17. 使用的一抗浓度下限是多少？

我们的实验方案中使用的是0.5 µg一抗加7 µL buffer的体系，最终浓度为0.07 mg/mL。如果您的抗体浓度较低，在使用相同比例量的FlexLinker和FlexQuencher时，您也可以使用大于7 µL的体积。

18. 试剂反复冻融50次可以吗？

可以。FlexAble试剂盒在反复冻融过程中其信号依然稳定，仍能正常起作用，但是分装保存可进一步延长有效期。