

FITC

中文名: 异硫氰酸荧光素;

英文名: Flourescein iso-thiocyanate;

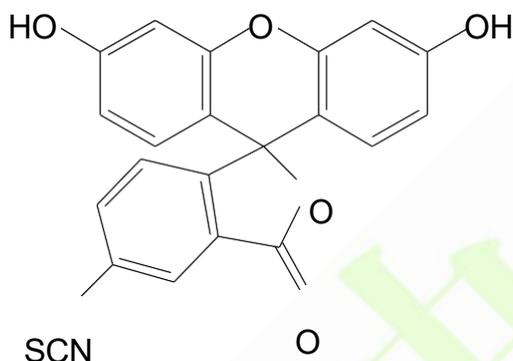
CAS#: 3326-32-7

分子式: C₂₁H₁₁NO₅S

分子量: 389.38;

储存条件: -20°C干燥避光保存, 有效期一年。

结构式:



性质:

1. 外观: 黄色粉末
2. 纯度: ≥95% (HPLC)

产品描述:

FITC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黄绿色荧光。通过在荧光显微镜下观察或流式细胞仪分析可对相应抗原进行定性、定位或定量的检测。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。

FITC标记抗体流程:

- (1) 将待交联的蛋白 (浓度 1mg/mL) 对交联反应液透析三次 4°C, 至 pH = 9.0。交联反

应液配制方法：7.56g NaHCO₃， 1.06g Na₂CO₃， 7.36g NaCl，加水定容至 1 L。

- (2) 将 FITC 溶于 DMSO 中，浓度为 1mg/mL。每次交联使用的 FITC 均应新鲜配制，避光。
- (3) 按 P:F (蛋白质:FITC) =1mg:150μg 的比例将 FITC 缓慢加入于抗体溶液中，边加边轻轻晃动使其与抗体混合均匀，暗处 4°C反应 8h。
- (4) 加入 5mol/L 的 NH₄Cl 至终浓度 50mmol/L，4°C终止反应 2h。
- (5) 将交联物在 PBS 中透析四次以上，至透析液清亮。
- (6) 交联物的鉴定

$$\text{蛋白浓度(mg/mL)} = [A_{280} - 0.31 \times A_{495}] / 1.4$$

F/P 比例: $3.1 \times A_{495} / [A_{280} - 0.31 \times A_{495}]$ ，该值应介于 2.5 ~ 6.5 之间。

- (7) FITC 交联的蛋白应置于 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液中，加入 0.1% NaN₃、1% BSA，4°C避光保存。