

检测抗体操作手册

DETECTION ANTIBODY OPERATION MANUAL

[Compound Library](#)[Inhibitors & Agonists](#)[Antibodies](#)[Natural Compounds](#)[Recombinant Proteins](#)

抗体的种类有哪些？

抗体可根据产品类型和生产方式分为以下几类：

1) 产品类型：

一抗 (Primary Antibodies)：直接与目标抗原结合，主要用于检测和分析实验中的特定抗原。

二抗 (Secondary Antibodies)：与一抗结合，通常携带酶、荧光染料或其他标记物，用于检测或放大信号。

2) 生产方式：

单克隆抗体 (Monoclonal Antibodies, mAb)：由单一B细胞克隆产生，识别特定抗原表位，具有高度特异性和一致性。

多克隆抗体 (Polyclonal Antibodies, pAb)：由多种B细胞克隆产生，能够识别抗原的多个表位，通常在灵敏度上较高。

基因工程抗体 (Genetically Engineered Antibodies)：通过基因工程技术生产的抗体，可以根据需要定制抗体的特性，如亲和力、特异性或稳定性。

抗体是如何运输的？

抗体需要在低温条件下运输，通常使用蓝冰或干冰进行运输。具体的运输方式请参考产品官网页面的详细说明。

抗体应该如何保存和分装？

1) 保存：抗体应在低温条件下保存，建议严格按照产品 COA 上的储存条件进行操作。按建议条件储存，产品可稳定保存至少一年。注意，反复冻融可能会导致抗体活性下降或丧失。

2) 分装：为防止溶液粘附在管壁或管盖上，使用前应先离心 (10000 x g, 20 秒)。分装的大小应根据实验中通常使用的抗体量决定。分装量不应小于 10 μL，因为分装量越小，因蒸发和抗体吸附到小瓶表面而导致的浓度变化越大。

抗体缓冲液常见组分及作用是什么？

1) 甘油：甘油可以降低冰点，通过将最终浓度调至 50%，可以在 -20 °C 下以液态保存抗体，避免反复冻融。

2) 叠氮化物：叠氮化物可防止微生物生长，从而延长抗体的保存期限。但具有一定的毒性，不建议用于活细胞实验，可能抑制某些酶的活性。

3) BSA：作为载体蛋白，BSA 可防止抗体吸附在储存容器壁上，增加抗体的稳定性。但在某些敏感实验中可能引起非特异性背景信号，且在标记实验中可能与标记物竞争结合。

抗体是否在其他物种/应用中验证过？

抗体已验证的所有物种和应用均在说明书中列出。

抗体能否在未经测试的物种中检测到？

即使序列比对度很高，由于涉及多种变量，无法保证抗体在未经测试的物种中能够正常工作。

如何设定一抗的稀释度/浓度?

大多数抗体在说明书中提供了推荐的稀释度/浓度,建议首先遵循这些说明。如果没有推荐稀释度,可以参考初始稀释表,并根据实验结果进行调整。

	组织培养上清	腹水	全抗血清	纯化抗体
WB/DB	1/100	1/1,000	1/500	1 µg/mL
FC	1/100	1/1,000	1/500	1 µg/mL
ELISA	1/1,000	1/10,000	1/500	0.1 µg/mL
IHC/ICC	原液-1/10	1/100	1/50-1/100	5 µg/mL
IP	...	1/100	1/50-1/100	1-10 µg/mL

抗体是否会与同一家族中的其他亚型或蛋白质发生交叉反应?

如果有抗体的交叉反应性数据,均展示在数据表中的“特异性”和“交叉反应”部分。如果没有交叉反应性数据,建议检查免疫原序列与您感兴趣的亚型或其他蛋白质的序列比对。

比对得分超过 85% 的,抗体可能发生交叉反应;得分远低于 85% 的,则可能不发生交叉反应。

克隆号是什么意思?

克隆号代表从腹水中克隆出的特定细胞系,这些细胞系用于制造抗体。由于单克隆抗体由多个宿主和多个细胞系生产,每个克隆的细胞系都会获得一个唯一的克隆号以便识别。

如何选择同型对照?

同型对照用于确认一抗的结合是特异性的,而不是其他蛋白质相互作用或非特异性 Fc 受体结合的结果。同型对照抗体应与一抗的宿主物种、同型和偶联物相匹配。例如,如果您使用的一抗是 HRP 标记的大鼠 IgG1,则同型对照也应选择 HRP 标记的大鼠 IgG1。

如何选择二抗?

二抗应针对您所使用的一抗的宿主物种进行选择。例如,如果您使用大鼠单克隆抗体作为一抗,则需要选择抗大鼠的二抗。

在 Western Blotting (WB) 中,如何选择上样对照(内参)?

由于在大多数情况下其稳定的表达水平,在 Western Blot 实验中,常用的上样对照包括抗 β -微管蛋白(β -tubulin)、抗 β -肌动蛋白(β -actin)或抗 GAPDH 抗体。选择合适的上样对照时,需要考虑以下两个因素:

细胞裂解物的类型:选择在裂解物中存在的上样对照。例如,由于微管蛋白和肌动蛋白位于细胞质中,相应的抗体不适用于核细胞裂解物的 Western Blot 实验(此时应选择组蛋白抗体)。

分子量:选择的上样对照蛋白质的分子量应与测试的靶标蛋白不同,以避免两个条带之间的干扰。例如,如果靶标蛋白的分子量约为 39 kDa,最好选择微管蛋白抗体而不是肌动蛋白抗体作为上样对照,因为这两种蛋白质的分子量分别为 50kDa 和 42kDa。



如果您有任何问题,请随时联系我们的技术支持
tech@targetmol.com

扫一扫关注TargetMol