

概述

该试剂盒主要用于制备生物素标记的蛋白质，用于酶免疫分析 (EIA)。NH₂-Reactive Biotin是试剂盒的成分之一，它含有琥珀酰亚胺基 (NHS)，很容易与蛋白质或者其它分子的氨基反应，不需要活化过程。试剂盒中的过滤管，用于除去可能会干扰标记的Tris buffer和胺类化合物等一些小分子蛋白，标记过程十分简便。只需将NH₂-Reactive Biotin加入到IgG溶液中，37 °C培养10分钟即可，每个IgG分子平均能和5-8个生物素分子结合。过量的生物素分子能够使用过滤管将其除去。该试剂盒中包含了标记所需的全部试剂，包含缓冲液。

试剂盒规格

3个样品

样品条件：分子量 > 50,000 标记量：50-200 μg

试剂盒内含

- NH₂-Reactive Biotin 3管
 - Reaction Buffer 0.5 ml × 1管
 - WS Buffer 4 ml × 1瓶
 - Filtration Tube 3管

储存条件

0-5 °C 保存，未开封可保存12个月。

注意

NH₂-Reactive Biotin开封后，把未用完的NH₂-Reactive Biotin放回铝箔袋中，密封后在 -20 °C 保存。把试剂盒中的其他成分 0-5 °C 保存。

如果要标记的蛋白含有分子量大于10,000的其他蛋白，如BSA或明胶时，在使用该试剂盒标记前，先要纯化IgG溶液，**本公司的IgG Purification Kit (货号：AP01、AP02) 可用于纯化IgG**，如果IgG溶液含有小的不溶物，离心后取上清来进行标记。

所需的设备和材料

- 10 μl 和 100-200 μl 移液器
 - 0.5 ml 小试管
 - DMSO
 - 37 °C 培养箱
 - 微型离心机

标记IgG步骤



1 将100 μl WS Buffer以及含有100 μg IgG的样品溶液加入到过滤管中^{a)}。



2 8,000-10,000 × g离心10 min^{b)}。



3 将10 μl DMSO加入到NH₂-Reactive Biotin中并用移液器吹打使其溶解^{c)}。



4 将100 μl Reaction Buffer以及8 μl NH₂-Reactive Biotin溶液加入到过滤管中，吹打使其混合^{d)}。



5 将过滤管放入培养箱中，37 °C培养10 min。



6 将100 μl WS Buffer加入到过滤管中，8,000-10,000 × g离心10 min^{b)}，除去滤液。



7 将200 μl WS Buffer加入到过滤管中，8,000-10,000 × g离心10 min^{b)}，重复该步骤一次。



8 将200 μl WS Buffer加入到过滤管中吹打10-15次来回收标记产物^{e)}。将该溶液转移到0.5 ml试管中，在0-5 °C下保存。

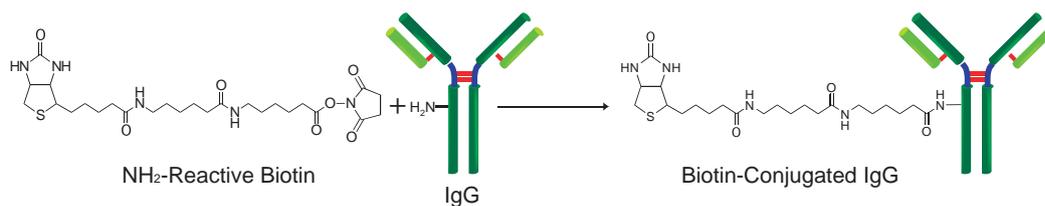
a) 样品溶液的体积不应超过100 μl。如果蛋白质浓度低于0.5 mg/ml，重复操作步骤1和2直至总的蛋白质质量达到50-200 μg。如果累积过程中滤液的体积超过400 μl，则在进行后续的离心操作前应除去滤液。

b) 如果溶液在离心后仍然残留在膜上，可以再离心5 min或者适当增加转速直至膜上没有残留液体。

c) NH₂-Reactive Biotin在管子的底部，向管底加入10 μl DMSO，吹打数次使其溶解。

d) 如果蛋白质的量为200 μg，在操作步骤4时加入所有的NH₂-Reactive Biotin-DMSO溶液。

e) 并不一定要使用WS Buffer来回收标记产物，可以选择任何适合于该实验的缓冲液来替代。



Q&A

Q1. 这个试剂盒可以给哪些蛋白质标记生物素？

A1. 分子量大于50,000且含有氨基的蛋白质。

Q2. 这个试剂盒可以用于标记其他蛋白质吗？

A2. 可以。但是如果含有像血清白蛋白或者明胶的蛋白，标记反应可能会受到干扰。用这个试剂盒标记之前，有必要先纯化抗体溶液。如果您想进一步了解纯化过程可以联系我们。

Q3. 标记产物能保存多久？

A3. 在0-5℃下能够保存2个月。如果需要保存更久，可以添加等量的丙三醇，并在-20℃下(只要该蛋白可以冷冻)存放。但是，还要注意样品自身是否稳定。

Q4. 有多少个生物素分子被结合到蛋白上？

A4. 结合到蛋白上的生物素分子数量取决于蛋白自身。例如标记兔IgG的时候，每个蛋白上结合7-10个生物素分子。

Q5. 用该试剂盒所能标记的蛋白质的最小量是多少？

A5. 我们推荐的蛋白质的最小量为50 μg。虽然10 μg也可以使用这个试剂盒进行标记，但是背景会增加。

Q6. 能不能用这个试剂盒标记寡核苷酸和寡肽？

A6. 不能，寡核苷酸和寡肽的分子量太小不能使其保留在过滤膜上。

Q7. 含有生物素标记蛋白质的活细胞怎么处理？

A7. 我们推荐使用PBS(含2-10% FBS)制备细胞悬液，保持最佳细胞状态。

Q8. 回收缓冲液(WS Buffer)对活细胞有危害吗？

A8. 没有。WS Buffer含有表面活性剂，它的浓度控制在对细胞没有毒性的范围内。如果您担心WS Buffer中的添加剂，请您使用常用的缓冲液代替。

DOJINDO 东仁化学科技(上海)有限公司

如果您需要更多的信息或者有任何问题可以通过以下方式联系我们：

上海

上海市零陵路899号飞洲国际广场27楼J座

邮编：200030

电话：400-823-9388

网址：<http://www.dojindo.cn>

E-mail: info@dojindo.cn

北京

北京市朝阳区德外马甸裕民路12号元辰鑫大厦E1-210室

邮编：100029

电话：010-8225-1765

网址：<http://www.dojindo.cn>

E-mail: info@dojindo.cn

修订日期：2016年8月