

产品说明书

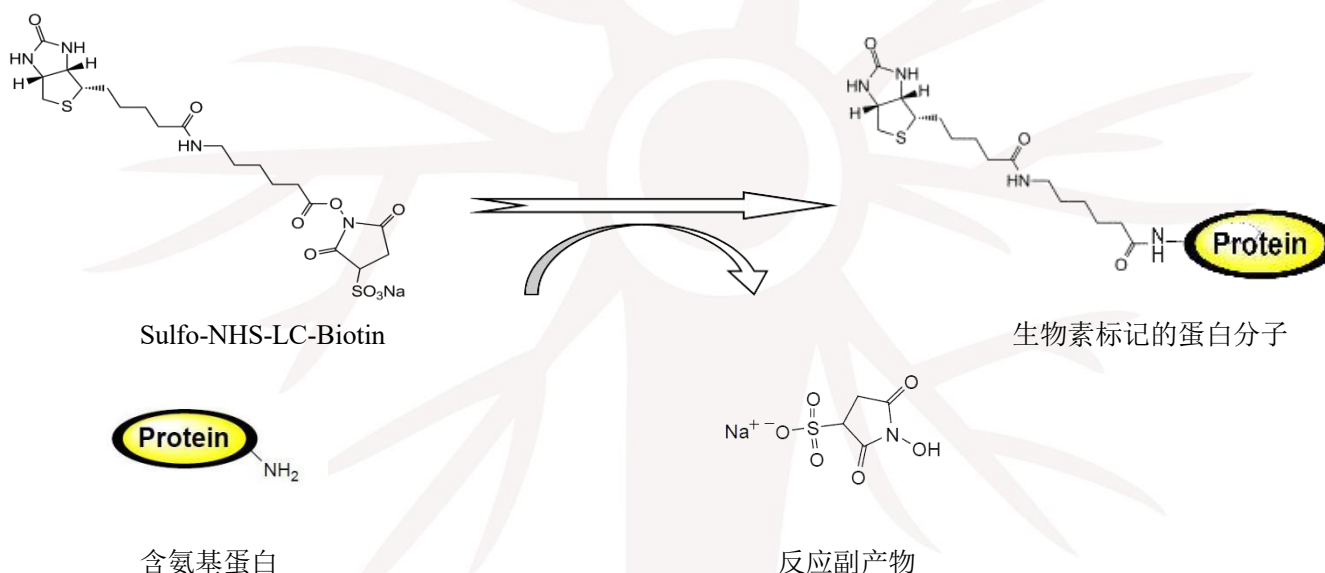
产品货号: TDLK23001

产品内容:

组分	TDLK23001
A: 生物素 (Sulfo-NHS-LC-Biotin)	1支
B: 标记缓冲液(PH=7.4)	1瓶
C: 超虑管 (10KDa)	1套
D: 蛋白保存液	1瓶

储存条件: 生物素干粉储存在-20℃。其他标记组分储存在4℃。标记试剂盒冰袋运输。

本生物素标记试剂盒提供了生物素快速标记所需的全部试剂, 用于含有伯氨基 (NH<sub>2</sub>-) 的抗体、蛋白、多肽或者其他大分子的标记。本试剂盒提供的活化生物素最多可标记10mg左右的IgG抗体。用户可根据自身需求计算所需生物素的投料量。



实验准备:

1. 仔细阅读使用说明书。
2. 提前从冰箱拿出标记试剂盒各组分平衡至室温。
3. 用180μL组分B溶解组分A管中的生物素, 充分溶解配制成10mM的生物素工作液。
4. 按照生物素标记使用量计算所需添加生物素的量。
5. 标记使用生物素量的计算: 标记程度取决于蛋白质上氨基的分布、蛋白浓度和所用试剂的量。实验分析表明待标记蛋白或抗体的浓度在2mg/mL的时候, 需使用20倍蛋白或抗体摩尔数的生物素; 而当低于1mg/mL的时候, 则需要加入更高摩尔倍数的生物素, 以确保蛋白或抗体分子中生物素的标记水平。

用以下公式计算需要加入生物素的摩尔量:

$$\text{mL protein} \times (\text{mg protein/mL protein}) \times (\text{mmol protein/mg protein}) \times (\text{mmol Biotin/mmol protein}) \times 20 \\ = \text{mmol Biotin}$$

然后计算需要多少微升10mM的生物素:

$$\text{mmol Biotin} \times (1000000\mu\text{L/L}) \times (\text{L}/10\text{mmol}) = \mu\text{L Biotin}$$

**例:** 有1mL 2mg/mL的IgG溶液要标记, 则需要加入~27 $\mu$ L 10mM的Sulfo-NHS-LC-Biotin。

$$1\text{mL IgG} \times 2\text{mg/mL IgG} \times (1\text{mmol IgG}/150000 \text{ mg IgG}) \times (1\text{mmol Biotin}/1\text{mmol IgG}) \times 20 \\ = 0.000267 \text{ mmol Biotin}$$

$$0.000267 \text{ mmol Biotin} \times (1000000\mu\text{L/L}) \times (\text{L}/10\text{mmol}) = 26.7\mu\text{L Biotin}$$

**操作步骤:** (本操作步骤按照1mg抗体的量进行标记)

1. 取1mg待标记抗体于组分C超滤管中, 并加入相应体积的组分B, 使抗体的终浓度为2mg/mL。如果抗体浓度过低可以通过超滤离心浓缩至2mg/mL左右。如果待标记物含有游离的Tris, 氨基酸或者其他干扰物, 需要用组分B反复超滤确保其被去除干净。)
2. 加入13.3 $\mu$ L生物素(10mM)工作液和适量组分B至上述超滤管中, 使终体积为0.5ml, 并轻轻吹打混匀。恒温37 $^{\circ}$ C孵育30min, 期间可每隔10min吹打一次。(10mM生物素工作液最好一次性使用)
3. 标记到这一步已完成, 尽管溶液中仍有过量未反应的和水解的生物素试剂, 已经可以用 ELISA 和 Western blot 实验初步测试标记蛋白。
4. 加入适量组分B至上述超滤管中, 6000 rpm离心 10min。重复此操作至少4次。
5. 收集超滤管中的溶液(即生物素标记的抗体)。加入等量组分D保存至-20 $^{\circ}$ C冰箱或三分之二的组分D保存至-80 $^{\circ}$ C冰箱中。

**注意事项:**

1. 本试剂盒适用于所有含伯氨(-NH<sub>2</sub>)的大分子物质的标记(蛋白, 抗体, 多肽及其他含有伯氨基团根据其分子量大小和标记程度选择合适的量)
2. 本试剂盒配备了标记物保存液组分D, 其中主要成分为甘油。客户也可以根据被标记物的特点和用途不同, 选择更适合自己的保存液。本试剂盒未开封前的有效期为 12 个月, 请在有效期内使用。
3. 本系列试剂盒提供的超滤管组分C为10KDa 截留分子量和0.5mL 的最大容积, 客户需要根据自己的要标记的物质的分子量大小和标记量选择合适的超滤管。或者提前联系我们以便提供您所需的超滤管规格。
4. **10mM 生物素工作液配置好后, 最好一次性使用。剩余部分最多可在-20 $^{\circ}$ C保存一周, 偶联效率可能降低。**