

# 生物素快速标记试剂盒

货号：PMK2551CG

保存：-20℃避光保存 12 个月

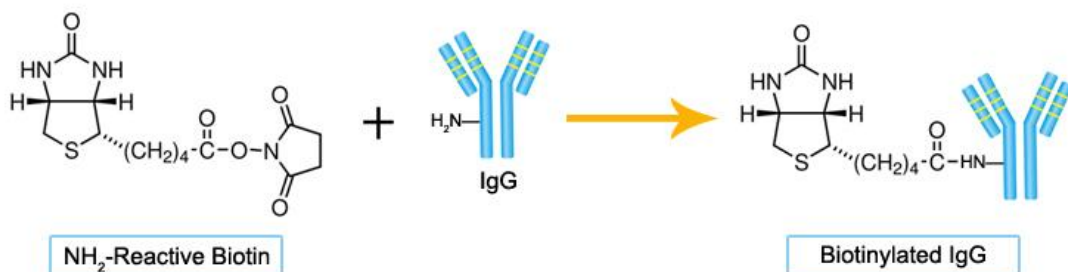
规格：2mg/4mg/6mg

**预期用途：**本试剂盒适用于含有伯氨基（NH<sub>2</sub>-）的蛋白/抗体/多肽或者其他大分子的生物素标记。

## 产品简介：

生物素是一种水溶性 B-维生素，分子量为 244 Da。它由四氢噻吩环和脲基环结合而成，戊酸取代基结合在四氢噻吩环碳原子上。生物素与链霉亲和素或链霉亲和素蛋白有高亲和力，因此生物素-链霉亲和素系统可作为多层级信号放大系统，广泛用于免疫检测中，具有高灵敏度和强特异性。本试剂盒提供了标记所需的全部试剂，可直接在抗体、多肽及其它含游离氨基的配体上标记 Biotin。试剂盒中生物素已预先活化，可直接用于偶联实验。

**标记原理：**在一定 pH 范围内，NH<sub>2</sub>-Reactive Biotin 专一地与伯氨基反应（N-末端及赖氨酸残基侧链）形成稳定的酰胺键，从而实现与蛋白的偶联。



## 产品特点

**快速：**整个过程最快仅需 90min。

**简单：**使用方法简单，无需额外准备试剂；生物素已活化，可直接使用。

**便捷：**提供超滤管去除游离的生物素，无需透析。

**使用灵活：**既可用于微量标记又可大量标记。用本试剂盒配备的 10KD 超滤管（0.5mL），2mg 规格的试剂盒每次可标记约 0.1-2mg 蛋白，4mg 规格的试剂盒每次可标记约 0.1-4mg 蛋白，6mg 规格的试剂盒每次可标记约 0.1-6mg 蛋白。如需更大规格的标记，可自备 4mL/15mL 10KD 超滤管。2mg 生物素最多可标记 44mg 抗体。

## 产品内容

试剂盒组分	规格			储存条件
	2mg	4mg	6mg	
活化生物素	2mg×1	2mg×2	2mg×3	-20℃避光保存
DMF	1mL	2mL	3mL	4℃保存
标记缓冲液（10×）	25mL	50mL	75mL	4℃保存
1×PBS 7.4	120mL	120mL×2	120mL×3	4℃保存
10KD 超滤管（0.5mL）	2 支	4 支	6 支	室温保存

**注意：**该试剂盒所配超滤管适用于分子量在 100KD 到 200KD 的样本；溶解后的活化生物素请密封放在 -20℃ 保存，一周内可以正常使用，如果超过一周，一个月之内使用，使用量请酌情加大；超过一个月请不要再使用。

## 产品说明书

### 自备耗材

可调节式移液枪及枪头  
恒温箱，离心机（离心力可到 12000×g）

### 活化生物素标记蛋白使用量的计算：

每个反应中生物素的使用量取决于待标记蛋白的质量、浓度和分子量。此试剂盒针对分子量在 100KD 到 200KD 大小的蛋白，活化生物素和蛋白的最佳分子比为 20:1。溶解后的活化生物素的摩尔浓度为 10mM，计算可得标记 2mg 抗体需要 26.6 μL 溶解后的活化生物素，按比例得标记 1mg 抗体需要 13.3 μL 溶解后的活化生物素，以此类推。其他蛋白需要的生物素的使用量可以根据分子量进行计算。

### 实验步骤

#### 标记前准备

1. 从-20℃取出生物素快速标记试剂盒，室温条件下平衡 30 分钟，液体试剂请提前 4℃解冻摇匀并 4℃保存。标记缓冲液（1×）：标记缓冲液（10×）用去离子水 1:10 稀释（按 5mL 10×标记缓冲液+45mL 去离子水的比例），根据需要的量进行稀释。
2. 超滤管浸润：向干燥的超滤管滤芯中加入 500 μL 标记缓冲液，室温放置 10min 备用，在加入待标记物之前弃去标记缓冲液即可（整个标记过程中超滤管滤芯都应该保持湿润）。
3. 溶解活化生物素：用 586 μL DMF 溶解 2mg 活化生物素（分子量:341.38），静置 10min，待其充分溶解，此时活化生物素的浓度为 10mM，盖好管子备用。

#### 标记步骤（本操作步骤按照 1mg 抗体的量进行标记）

1. 浓缩换液：取 1mg 待标记抗体加入 10KD 超滤管中，并用标记缓冲液补充总体积到 0.5mL，盖好管盖，12,000g，4℃离心 10min，弃掉滤液。  
注：如果 1mg 抗体体积大于 0.5mL，请分多次加入，离心超滤浓缩。如果待标记物中含有游离的氨基（Tris，氨基酸或者其他干扰物，需要用标记缓冲液反复超滤 4 次确保其去除干净）。
2. 回收定量：倒置收集溶液（取出超滤管内芯，倒置于干净外管中，4,000g，4℃离心 2min，回收浓缩换液后的抗体）。向浓缩换液后的抗体中加入适量标记缓冲液至蛋白浓度约为 2mg/mL，同时，在超滤管内芯中加入 0.5mL 标记缓冲液，置于管架上备用。
3. 标记反应：立即向抗体溶液中加入 13.3 μL 的 10mM 活化生物素，轻轻吹打混匀，盖上盖子密封，放入 37℃恒温箱中避光温育 60min。
4. 超滤纯化：将反应溶液转移至甩干的超滤管内芯（若上述反应液已超过 0.5mL，可超滤后分多次转移至甩干的超滤管内芯中），加入适量的 1×PBS7.4 至上述反应液中，使终体积为 0.5mL，轻轻吹打混匀，并与收集管配套后盖好，12000×g 的转速离心 10min。弃去收集管中液体，向超滤管内芯中补足 1×PBS7.4 至 500 μL，重复离心超滤操作 2-3 次。
5. 收集产物并保存：将超滤管内芯倒置于另一个收集管中，4000g 离心 2min。收集收集管中的溶液，即为生物素标记的抗体。向标记后的抗体中加入等体积甘油于 -20℃ 存储，可稳定保存半年以上。

### 常见问题

1: 浓缩后抗体浓度仍低于 2mg/mL?

答：如果浓缩后抗体浓度仍小于 2mg/mL 可适当调整反应体积，但最终浓度应大于 1mg/mL。活化生物素溶液保持不变，您也可以根据自己实验进行适当调整。

2: 待标记样本分子量大小不同，如何选择合适的超滤管？

答：本产品配备的超滤管适用于分子量为 100KD-200KD 的样本。若您需要偶联的样本分子量大于 200KD 或小于 100KD，为保证偶联最佳效果，需另行配备大小合适的超滤管。选择的原则为：超滤管的截留分子量（MWC0）通常应小于目标分子大小的 1/3。

3: 待标记分子分子量与生物素相近，如何纯化？

答：如果样本分子量与生物素相近，可在进行完此说明书对应的标记步骤后加入 30μL 0.5μM NH<sub>4</sub>Cl，37℃ 下孵育 10min，以淬灭游离的生物素，无须进行此说明书对应的纯化步骤。

4: 对于不同分子量的样本，偶联效果是否有差异？

答：对于分子量小于 5KD 的分子，偶联效果较差，您可以适当增加分子用量。推荐活化生物素和蛋白的分子比范围为 2.5:1-8:1，可根据分子量大小调整分子比，或通过实验摸索来确定最佳分子比。

## 产品说明书

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK-015-095S Biotin-Goat anti-mouse IgG  
PMK-015-096S Biotin-Goat anti-Rabbit IgG  
PMK2550CG HRP 快速标记试剂盒  
PMK2552CG FITC 快速标记试剂盒

更多产品详情了解，请关注公众号：

