

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

EnAbTM NHS-PEG4-生物素标记试剂盒

产品货号: RE80002w

产品规格: 40 μ g/200 μ g/2mg

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

Web: <https://www.enkilife.cn/>

E-mail: order@enkilife.cn

Tel: 027-87002838

产品简介

Enkilife 生物素标记试剂盒提供了目前市面上几种常用的生物素类型,所有生物素标记试剂盒包含标记所需全部试剂,用于含有伯氨基的蛋白、抗体的标记,本试剂盒提供的组分配套默认标记抗体或与抗体类似大小的蛋白。

产品特点

- ◆ **快速:** 标记时间仅需约 30 分钟。
- ◆ **种类丰富:** 提供多种类型生物素,可应对多种应用需求。
- ◆ **效果突出:** 针对性的优化标记缓冲液,标记位点远离抗原结合位点,标记抗体同质性高。
- ◆ **简便:** 每只生物素试剂已经优化设计好对应的抗体量,且已经活化可直接使用,无需繁琐计算,批次稳定,按照步骤进行操作即可得到最佳效果。

生物素信息

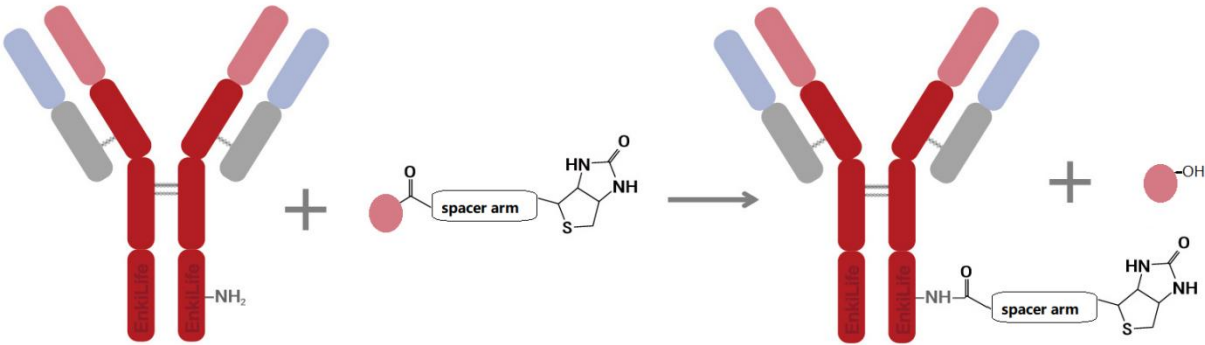
生物素类型	间隔臂(spacer arm)长度	溶解度	主要特性	对应 kit 货号
Sulfo-NHS-Biotin	13.5 埃	水溶性	膜不透性、短臂,带磺基,水溶液中溶解度高	RE80002q
Sulfo-NHS-LC-Biotin	22.4 埃	水溶性	膜不透性,中等臂长,带磺基,水溶液中溶解度高	RE80002s
Sulfo-NHS-LC-LC-Biotin	30.5 埃	水溶性	膜不透性,增强的臂长,带磺基,水溶液中溶解度高	RE80002u
Sulfo-NHS-SS-Biotin	24.3 埃	水溶性	膜不透性,可选择性切割	RE80002v
NHS-PEG4-Biotin	29.0 埃	水溶性	PEG 化,防蛋白聚集	RE80002w

标记试剂盒的选择

- ◆ 当需要最终标记物分子量尽可能小,选择短臂生物素标记试剂盒。
- ◆ 当下游应用需要使用还原剂切割生物素标签时,选择 Sulfo-NHS-SS-Biotin 标记试剂盒。
- ◆ 当需要最大限度提高蛋白质的溶解度,防止蛋白聚集,选择 NHS-PEG4-Biotin 标记试剂盒。
- ◆ 当希望最终结合空间位阻较小,选择长臂生物素标记试剂盒,根据结合特点选择合适的臂长。

标记原理

在一定的化学反应条件下,活化的生物素专一性地与抗体蛋白上的伯氨基反应形成稳定的酰胺键,从而实现与抗体蛋白的偶联。



产品组分

产品组分	不同规格组分含量			储存温度
	标 40 μ g 抗体	标 200 μ g 抗体	标 2mg 抗体	
NHS-PEG4-Biotin	1 管	5 管	5 管	-20°C after unsealing, shading light
50 KD 超滤管*	1 set**	1 set**	1 set**	RT
标记缓冲液 B	10 mL	10 mL	10 mL	2~8°C
1×PBS (pH 7.4)	10 mL	10 mL	10 mL	2~8°C
DMF	100 μ L	100 μ L	100 μ L	2~8°C, shading light
标记蛋白保存液	200 μ L	1 mL	5 mL	2~8°C
建议标记抗体量	每管生物素可标记 20~40 μ g 抗体, 推荐标记 20 μ g 抗体	每管生物素可标记 20~40 μ g 抗体, 推荐标记 20 μ g 抗体	每管生物素可标记 100~400 μ g 抗体, 推荐标记 200 μ g 抗体	

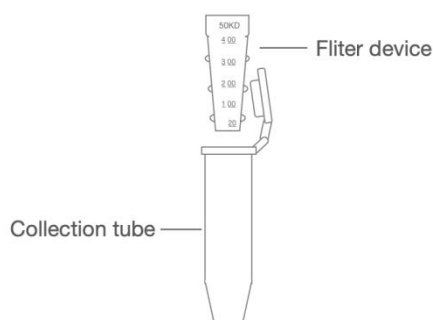
*超滤管使用说明:

若标记同一种生物分子, 超滤管膜未破裂前可重复使用数次。

若标记不同生物分子, 应更换不同超滤管, 避免生物分子交叉污染。

**50 KD 超滤管如需更多数量, 请联系我们提供。

***1 set 50 KD 超滤管(0.5 mL)包括 1 个滤芯 (filter device) 和 2 个收集管 (collection tube)。



保存条件

试剂盒各组分按照说明的储存温度可稳定保存一年以上, 溶解后的染料或试剂应尽快使用, 最长可在-20°C 或-80°C 保存一周。

操作过程

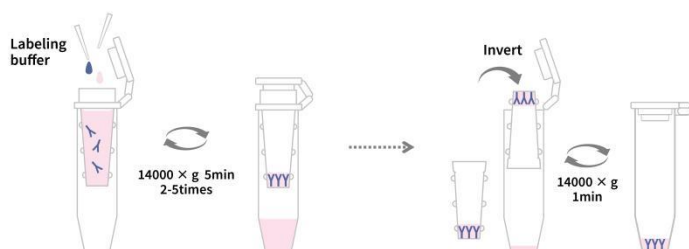
实验前准备

1. 仔细阅读使用说明书。
2. 提前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒, 使试剂盒各组分平衡至室温。(注: 不需要用到的试剂组分继续放置在冰箱中)。
3. 超滤管浸润: 向干燥的超滤管滤芯中加入 500 μ L 标记缓冲液, 室温放置 10 分钟备用, 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)。
4. 溶解生物素: 每管标记 20~40 μ g 抗体的生物素用 1 μ L DMF 溶解, 每管标记 100~400 μ g 抗体的生物素用 10 μ L DMF 溶解, 涡旋混匀或移液器吸打使其完全溶解, 备用。
5. 抗体准备: 请确保抗体样本符合下表标准

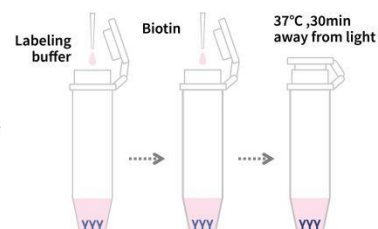
抗体组分	试剂盒标记兼容性
叠氮钠<0.1%，甘油<50%，Tris<50mM，甘氨酸<50mM，Proclin <0.5%，EDTA<10mM，海藻糖<5%，蔗糖<5%，或其他小分子添加物	是，执行 抗体样本超滤浓缩换液步骤 ，即标记步骤 1.
腹水、血清、细胞培养上清中的抗体	否，执行纯化步骤后再使用本试剂盒
含 BSA	否，使用 BSA 去除试剂盒（如 RE80028: BSA Removal Kit）纯化抗体后再使用本试剂盒
抗体浓度远低于 1mg/mL	是，执行 抗体样本超滤浓缩换液步骤 ，即标记步骤 1.

标记流程

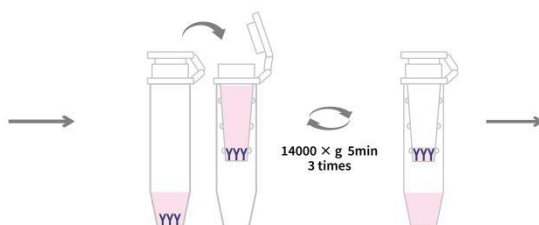
1. Replace the antibody buffer



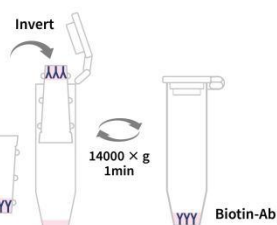
2. Labeling reaction



3. Ultrafilter



4. Collect Biotin-Ab



标记步骤（适用于标记 500 μg~2mg 抗体）

- 抗体样本超滤浓缩换液步骤：**取 500 μg~2mg 待标记抗体于超滤管滤芯中，并加入不超过超滤管滤芯最大体积的标记缓冲液，14000 × g 离心 3~5 分钟，弃去滤液；可以重复此步骤 3 次，最后一次超滤完成得到 50~100 μL，将超滤管滤芯倒置于收集管中，14000 × g 离心 1 分钟，收集得到的抗体溶液，补加标记缓冲液至总体积为 450 μL。同时再将滤芯中补加适量 1×PBS，保持湿润。
- 将 5 管溶解后的 NHS-PEG4-Biotin 混合在一起共 50 μL 和上述 450 μL 抗体溶液混合（此时总体积约 500 μL），轻轻快速吹打混匀。盖好盖子，放入 37 °C 恒温箱中避光温育 30 分钟。
- 弃去滤芯中缓冲液，将 500 μL 标记混合物转移至滤芯中，14000 × g 离心 3~5 分钟，弃去滤液，后更换使用 1×PBS 缓冲液重复此步骤 3~5 次。
- 加 200 μL 1×PBS 至超滤管中，轻轻吹打。将超滤管滤芯倒置于另一个收集管中，14000 × g 离心 1 分钟。收集管中得到的溶液，即为 NHS-PEG4-Biotin 标记的抗体。
- 向标记后的抗体中加入适量**标记蛋白保存液**，4°C 保存或分装后-20 °C 保存（也可不加蛋白保存液使用低吸附管子分装后-20 °C 保存），避免反复冻融，可稳定保存 6 个月以上。

标记步骤（适用于标记 100 μ g~200 μ g 抗体）

1. **抗体样本超滤浓缩换液步骤：** 取 100 μ g~200 μ g 待标记抗体于超滤管滤芯中，并加入不超过超滤管滤芯最大体积的标记缓冲液，14000 $\times$ g 离心 3~5 分钟，弃去滤液；可以重复此步骤 3 次，最后一次超滤完成得到约 30~40 μ L，将超滤管滤芯倒置于收集管中，14000 $\times$ g 离心 1 分钟，收集得到的抗体溶液，补加标记缓冲液至总体积为 95 μ L。同时再将滤芯中补加适量 1 $\times$ PBS，保持湿润。
2. 将 5 管溶解后的 NHS-PEG4-Biotin 混合在一起共 5 μ L 和上述 95 μ L 抗体溶液混合（此时总体积约 100 μ L），轻轻快速吹打混匀。盖好盖子，放入 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中避光温育 30 分钟。
3. 弃去滤芯中缓冲液，将 50 μ L 标记混合物转移至滤芯中，补足 1 $\times$ PBS 至 500 μ L，14000 $\times$ g 离心 3~5 分钟，弃去滤液，重复此步骤 2~4 次。
4. 取适量 1 $\times$ PBS（例如 100 μ L）至超滤管中，轻轻摇匀。将超滤管滤芯倒置于另一个收集管中，14000 $\times$ g 离心 1 分钟。收集管中得到的溶液，即为 NHS-PEG4-Biotin 标记的抗体。
5. 向标记后的抗体中加入适量**标记蛋白保存液**，4 $^{\circ}$ C 保存或分装后-20 $^{\circ}$ C 保存（也可不加蛋白保存液使用低吸附管子分装后-20 $^{\circ}$ C 保存），避免反复冻融，可稳定保存 6 个月以上。

标记步骤（适用于标记 20 μ g~40 μ g 抗体）

1. **抗体样本超滤浓缩换液步骤：** 取 20 μ g~40 μ g 待标记抗体于超滤管滤芯中，并加入不超过超滤管滤芯最大体积的标记缓冲液，14000 $\times$ g 离心 3~5 分钟，弃去滤液；可以重复此步骤 3 次，最后一次超滤完成得到 20~30 μ L，将超滤管滤芯倒置于收集管中，14000 $\times$ g 离心 1 分钟，收集得到 20~30 μ L 抗体溶液。将滤芯中补加适量 1 $\times$ PBS，保持湿润。
2. 将溶解后的 NHS-PEG4-Biotin 1 μ L 全部加至上述 20~30 μ L 抗体溶液中或将抗体溶液加入至溶解后的生物素中，轻轻快速吹打混匀。密封盖好盖子，放入 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中避光温育 30 分钟。
3. 弃去滤芯中缓冲液，将标记混合物再转入滤芯中，补足 1 $\times$ PBS 至 500 μ L，14000 $\times$ g 离心 3~5 分钟，弃去滤液，重复此步骤 2~3 次。
4. 将超滤管滤芯倒置于另一个收集管中，14000 $\times$ g 离心 1 分钟。收集管中得到的溶液，即为 NHS-PEG4-Biotin 标记的抗体。
5. 向标记后的抗体中加入适量**标记蛋白保存液**，4 $^{\circ}$ C 保存或分装后-20 $^{\circ}$ C 保存（也可不加蛋白保存液使用低吸附管子分装后-20 $^{\circ}$ C 保存），避免反复冻融，可稳定保存 6 个月以上。

注意事项

1. 本标记试剂盒设计是针对抗体(150 KD)的标记，如需要标记其他蛋白，请联系我们针对性选择相关试剂耗材或开展标记技术服务。
2. 生物素易受潮水解失效，实验前将其移至室温平衡后再开封。
3. 本试剂盒中设计的生物素用量和抗体用量相对固定，是基于标记多种抗体得出的经验比例，能保证得到较好效果。某些抗体或蛋白可能因特殊结构或定量差别较大，用户可根据实际情况选择合适规格的试剂盒增减生物素用量进行标记比例优化。
4. 试剂盒组份在运输过程中可能造成颠倒，会使液体或干粉试剂粘到管壁或瓶盖上。使用前请离心处理，以使附着管壁或瓶盖的液体或干粉试剂沉积到管底。

声明

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究使用。
2. 请注意安全事项，遵守实验室试剂操作规范操作。
3. 本试剂盒也可用于标记除 IgG 抗体外的其他蛋白，但应认识到不同蛋白的多种性状的变化，如蛋白在不同缓冲液中的溶解度，pH 稳定性，温度稳定性，蛋白纯度，标记位点的可及性等都和 IgG 有较大区别，因此本标记试剂盒不对标记除 IgG 之外的蛋白做质量保证。

附录:超滤管使用说明

1. 本试剂盒配备的 50kD 超滤管，滤芯最大容积 500 μ L，其上有刻度标识，用户如初次使用，可提前加入一定体积标记缓冲液，查看判断刻度和体积的对应关系，增减调整超滤离心时间。
2. 超滤离心时间和蛋白样本或偶联物特性有关，某些抗体的离心浓缩时间需要根据实际情况进行调整，例如超滤浓缩 20 μ g 抗体至 20~30 μ L 时，可适当延长离心时间，使抗体浓度尽量接近 1mg/mL。
3. 超滤膜是超滤管的关键部件，吹打、混匀蛋白液时，注意不要碰到超滤膜。