

## 生物素快速标记试剂盒(Biotin-LC-NHS)

## Biotin rapid labeling kit

产品组分	Cat No.	规格
生物素	NG-IR0004-1	2 mg
10kDa 超滤管		0.5 ml
标记缓冲液	NG-IR0004-2	30 ml
助溶剂	NG-IR0004-3	2 ml
使用说明书		1 份

## 01. 产品介绍

本产品是一款新型、高效的生物素标记试剂盒，可对目标蛋白、抗体及其他含伯氨基的分子进行快速标记。其标记效果通常优于传统 Biotin-NHS 试剂，适用于免疫组织化学、免疫印迹、ELISA、蛋白检测、流式细胞分析，以及 Southern、Northern 等多种分子与蛋白实验。

## 02. 储存条件

常温运输，2-8℃避光保存，有效期一年。

## 03. 产品特点

本试剂盒标记效率高、标记速度快、操作简单。

## 04. 使用方法

## 1、生物素使用量估算

每个反应中生物素试剂的使用量取决于待标记蛋白质的量和浓度。通过添加合适的生物素和蛋白比例，可以控制标记的水平。标记 2mg/ml 的抗体 (IgG , 150KD)，使用生物素和抗体的分子比为 20:1 能达到最佳效果，如果抗体的浓度较低的话，需要适当提高生物素的配比，以达到更好的标记效果。其他蛋白的标记可以根据实际情况，参照此比例类推。

计算公式如下：

$$V(\mu\text{L}) = \frac{V1(\text{mL}) \times C1(\text{mg} / \text{mL}) \times R}{M \times C(\text{mM})} \times 10^6$$

其中：V( $\mu$ L)为生物素的体积；

V1(mL)为待标记物（蛋白/抗体/其他含有伯胺-NH<sub>2</sub> 的大分子）；

C1(mg/mL)为待标记物的浓度；

R 为生物素与待标记物的分子比例；

M 为待标记物的分子量（道尔顿，Dalton，Da）；

C(mM)为生物素的浓度；

计算示例：我们将生物素配置成 10mM 的浓度，用来标记 1mL 的 2mg/mL 的抗体（IgG，150KD），准备加入的生物素与抗体的比例为 20:1，那么带入公式计算：

$$V(\mu L) = \frac{1 \times 2 \times 20}{150,000 \times 10} \times 10^6 = 26.66 \mu L$$

## 2、标记步骤（以 1mg 抗体的量进行标记为例）

- (1) 取出试剂盒组分，待平衡至室温后再开启盖子，特别是活性生物素，由于其湿度敏感，避免温差使试管内部受潮。
- (2) 取待标记的抗体，加入超滤管中，用标记缓冲液进行缓冲液置换（12,000 rpm 离心 10min），使抗体终浓度为 2mg/ml，同时确保缓冲液中不含 Tris 或其它含氨基酸干扰物。
- (3) 用助溶剂将活性超级生物素配制成 10mM 的浓度，(如：2mg 超级生物素加助溶剂 440ul)。
- (4) 加入 13.3 $\mu$ L 活性生物素溶液和适量标记缓冲液至上述超滤管中，使终体积为 0.5ml，并轻轻吹打混匀。放入 37°C 恒温箱中避光温育 30min 或置于 4°C 避光孵育 2h。
- (5) 12,000 rpm 离心 10min，弃掉滤出液，加入适量标记缓冲液至上述超滤管中，并轻轻吹打混匀，12,000 rpm 离心 10min，重复此步骤多次以去除未结合的生物素。
- (6) 收集超滤管中的溶液（即生物素标记的抗体），加入等体积保存液，于 -20°C 保存。

## 05. 注意事项

- 1、活性生物素具有湿度敏感性，如果不能一次性用完，需特别注意平衡至室温并在干燥的环境中开启盖子，稳定完成后需立即密封保存，防止受潮。溶解的活性生物素最好一次性使用完，如果使用不完可以密封放在-20℃的冰箱内，一月内可以使用，但是标记效率会降低；
- 2、如果待标记物中含有 Tris 或其它含氨基酸干扰物，需用标记缓冲液反复超滤去除干净，否则会影响标记效率；
- 3、请注意试剂盒中提供的超滤管的规格和分子截流大小来确定是否适合您的待标记蛋白。