

产品说明书

产品名称：Biotin-PEG4 NHS 微量抗体标记试剂盒 (Biotin-PEG4 NHS Microscale Antibody Labeling Kit)

产品货号：KB00002

产品规格：1 个反应

产品组分：

组分	浓度	体积	规格
Biotin-PEG4 NHS 工作液	5.0 nmol/ μ L	20 μ L	1 管, 棕色管, 棕色盖
2 \times Biotin-PEG4 NHS 反应缓冲液	2 \times	100 μ L	1 管, 透明管, 蓝色盖
1 \times 稀释缓冲液	1 \times	500 μ L	1 管, 透明管, 白色盖
10 \times 终止缓冲液	10 \times	50 μ L	1 管, 透明管, 红色盖
10K, 500 μ L 超滤管	/	/	1 个

储存条件：-20 $^{\circ}$ C 避光保存, 有效期见外包装。

产品介绍

Biotin-PEG4 NHS 是一种氨基反应生物素活化酯, 可与几乎任何蛋白质、抗体、胺修饰的寡核苷酸上的伯胺 (R-NH₂) 偶联。Biotin-PEG4 NHS 微量抗体标记试剂盒提供了一种使用 Biotin-PEG4 NHS 快速标记微量 (20~100 μ g) 抗体的方法。抗体标记通常可在 2 小时之内完成, 手动操作时间约 30 分钟。标记抗体可通过超滤膜快速进行脱盐纯化, 回收率通常为 60%~90%。Biotin-PEG4 NHS 微量抗体标记试剂盒可兼容低浓度的甘油、Tris 和硫柳汞, 但标记前必须去除样品中的稳定蛋白。

一个标准的 Biotin-PEG4 NHS 标记步骤中的生物素活化酯与抗体分子的摩尔比已经过优化, 可用于标记 50 μ g IgG 抗体, 实现每 1 分子抗体标记上 4~6 分子的生物素。因此在进行标记前, 需确认需标记 IgG 的 μ g 数量。在本试剂盒的标准反应体系中, IgG 的终浓度应不低于 1 mg/mL。若您需要更高的标记度, 您可能需要调整反应体系中生物素活化酯与抗体分子的摩尔比。

本试剂盒中配备的 2 \times Biotin-PEG4 NHS 反应缓冲液已根据 Biotin-PEG4 NHS 的特性进行了优化, 因此不建议与同系列的其他活化酯微量抗体标记试剂盒混用, 可能会导致最终的标记效果与预期不符。

抗体预处理

Biotin-PEG4 NHS 微量抗体标记试剂盒不受硫柳汞的影响, 可以兼容低浓度的甘油 (终浓度<10%) 和 Tris (终浓度<20mM), 但不兼容甘氨酸和稳定蛋白。如需对商品化抗体进行标记, 建议联系供应商以确认抗体溶液的浓度, 以及是否含有稳定剂等信息。

蛋白性稳定剂可能会影响抗体最终的标记效果, 建议先进行纯化, 除去蛋白性稳定剂后再进行抗体标记。如果有必要, 应确保加入标准反应体系中的总蛋白质终浓度不低于 1mg/mL。

如需除去抗体溶液中的非蛋白性稳定剂 (如甘油、Tris、甘氨酸), 可使用试剂盒中的超滤管和 1 \times 稀释缓冲液进行抗体溶液置换。操作步骤如下:

- 1、将适量抗体溶液加至超滤管中, 注意移液枪头不要触碰超滤膜。最大速率 (14,000~16,000 \times g) 离心 2 min, 使液体全部流入收集管, 去除收集管中的液体。
- 2、将等体积的 1 \times 稀释缓冲液加至超滤管中, 注意移液枪头不要触碰超滤膜。最大速率 (14,000~16,000 \times g) 离心 2 min, 使液体全部流入收集管, 去除收集管中的液体。重复清洗 2~3 次。
- 3、添加适当体积的 1 \times 稀释缓冲液至超滤管中, 使最终的抗体浓度不少于 1 mg/mL。小心吹吸缓冲液以重悬抗体, 注意移液枪头不要触碰超滤膜。
- 4、将上述超滤管倒放至新的离心管中, 12,000 \times g 离心 2 min, 收集离心管中的液体, 将其转移至干净的 EP 管中待用。

局限性：

本产品仅用于科研

www.nvcbiotech.com
Tel: 0512-67298826
Email: order@nvcbiotech.com

- ①10K 超滤膜的截留分子量约为 10kDa，因此适用于对分子量大于 10kDa 的生物分子进行脱盐纯化，不能用于对小于此分子量的生物分子进行脱盐纯化。
- ②抗体在反应体系中的终浓度高于 1 mg/mL 时，标记效率较高。因此如进行标记前，抗体的初始浓度较低时，也可使用超滤管进行浓缩，使其初始浓度高于 2 mg/mL。
- ③当反应体系的 pH 为弱碱性时，标记效率较高。因此进行标记前，抗体溶液的 pH 呈酸性或强碱性时，可先使用试剂盒中的超滤管和 1× 稀释缓冲液对抗体溶液进行置换。
- ④试剂盒中的超滤管可一次性容纳的最大样本体积为 500 μ L，可浓缩的最小体积为 20 μ L，膜上的滞留体积小于 5 μ L。使用时应避免移液枪头触碰超滤膜，以免撕裂或穿刺超滤膜，导致抗体损失。

标准标记步骤

以下步骤适用于抗体总量为 50 μ g 的一个标准标记反应体系：

- 1、从 -20°C 取出试剂盒中的所有组分，恢复至室温后，短暂离心，使液体集中在离心管底部。
- 2、依据抗体的初始浓度计算需加入反应体系的体积，依据下表将反应体系中的各组分进行混合 (50 μ L 反应体系)：

组分	体积 (μ L)
Biotin-PEG4 NHS 工作液	5
2× Biotin-PEG4 NHS 反应缓冲液	25
抗体 (50 μ g)	X
ddH ₂ O	补足至 50

- 3、在室温避光摇晃反应 1 h 后，向反应体系中加入 1/10 体积的 10× 终止缓冲液，室温避光孵育 30 min，以终止反应。
- 4、将上步的反应液全部转移至超滤管中，最大速率 (14,000~16,000×g) 离心 2 min，使液体全部流入收集管，去除收集管中的液体。
- 5、向上步的超滤管中加入 100 μ L 1× 稀释缓冲液，小心重悬抗体后，最大速率 (14,000~16,000×g) 离心 2 min，使液体全部流入收集管，去除收集管中的液体。重复洗涤 2~3 次，直至残余的未结合染料完全洗脱。
- 6、向上步的超滤管中加入适量的 1× 稀释缓冲液，使最终的抗体浓度不少于 1 mg/mL。小心吹吸缓冲液以重悬抗体，注意移液枪头不要触碰超滤膜。
- 7、将上步的超滤管倒置在新的收集管中，12,000×g 离心 2 min，收集离心管中的液体，将其转移至干净的 EP 管中。
- 8、标记好的抗体可直接使用，如需长期保存，则需另加入适量的稳定剂后，存放于 -20°C。

注意事项

- 1、Biotin-PEG4 NHS 微量抗体标记试剂盒中说明书所述的标记步骤仅适用于 IgG 类抗体，实现每 1 分子 IgG 抗体标记上 4~6 分子的生物素。标记不同的抗体，适用于不同应用场景的抗体，所需的生物素活化酯与抗体标记比例可能不同。
- 2、Biotin-PEG4 NHS 微量抗体标记试剂盒针对 IgG 类抗体标记进行了优化，如用于其他蛋白质的标记，可能无法达到最佳标记效果。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。