

## 超级生物素快速标记试剂盒

### Super Biotin Quick Labeling Kit

| 货号                  | 最大标记体积 | 待标记物最小分子量 | 可标记抗体量   |
|---------------------|--------|-----------|----------|
| BF06093S-3K-0.5mL   | 0.5mL  | 3kDa      | 0.2-10mg |
| BF06093S-3K-4.0mL   | 4.0mL  | 3kDa      | 1.0-80mg |
| BF06093S-3K-15mL    | 15mL   | 3kDa      | 5-300mg  |
| BF06093S-10K-0.5mL  | 0.5mL  | 10kDa     | 0.2-10mg |
| BF06093S-10K-4.0mL  | 4.0mL  | 10kDa     | 1.0-80mg |
| BF06093S-10K-15mL   | 15mL   | 10kDa     | 5-300mg  |
| BF06093S-30K-0.5mL  | 0.5mL  | 30kDa     | 0.2-10mg |
| BF06093S-30K-4.0mL  | 4.0mL  | 30kDa     | 1.0-80mg |
| BF06093S-30K-15mL   | 15mL   | 30kDa     | 5-300mg  |
| BF06093S-50K-0.5mL  | 0.5mL  | 50kDa     | 0.2-10mg |
| BF06093S-50K-4.0mL  | 4.0mL  | 50kDa     | 1.0-80mg |
| BF06093S-50K-15mL   | 15mL   | 50kDa     | 5-300mg  |
| BF06093S-100K-0.5mL | 0.5mL  | 100kDa    | 0.2-10mg |
| BF06093S-100K-4.0mL | 4.0mL  | 100kDa    | 1.0-80mg |
| BF06093S-100K-15mL  | 15mL   | 100kDa    | 5-300mg  |

注意：选购之前客户需要根据待标记物的分子量大小和标记量选择最适宜的型号

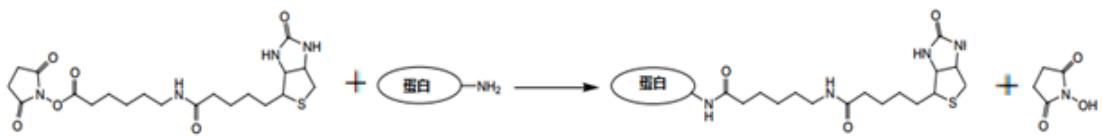
储存：2-8℃储存，有效期18个月

#### 成分：

| 名称     | BF06093S-0.5ml |    | BF06093S-4ml |    | BF06093S-15ml |    | 保存条件 |
|--------|----------------|----|--------------|----|---------------|----|------|
|        | 规格             | 数量 | 规格           | 数量 | 规格            | 数量 |      |
| 活性超级生物 | 2 mg /支        | 1支 | 4 mg /支      | 1支 | 6 mg /支       | 1支 | -20℃ |
| 超滤管    | 0.5mL/支        | 1支 | 4 mL/支       | 1支 | 15 mL/支       | 1支 | RT   |
| 助溶剂    | 1 mL/支         | 1支 | 1.5 mL/支     | 1支 | 2 mL/支        | 1支 | -20℃ |
| 标记缓冲液  | 30 mL/瓶        | 1瓶 | 30 mL/瓶      | 2瓶 | 30 mL/瓶       | 3瓶 | -20℃ |
| 标记物保存液 | 2 mL/支         | 1支 | 2 mL/支       | 2支 | 10 mL/支       | 1支 | -20℃ |

#### 一、产品描述

本品提供了生物素快速标记所需全部试剂，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标记。其反应原理如下：



## 二、产品特点

1. 延长了生物素的连接臂，更少地减少空间位阻，也可以适用于细胞的表面标记；
2. 使用方法简单，无需额外准备试剂；节约时间，整个过程仅需90min；
3. 通过离心脱盐和去除游离的生物素，无需透析或者凝胶过滤。

## 三、生物素标记使用量的计算

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。例如通过我们实验数据分析表明，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；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：

$$V(\mu\text{l})=[V1(\text{ml})\times C1(\text{mg/ml})\times R]/[M\times C(\text{mM})]\times 10^6$$

其中：V( $\mu\text{L}$ )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，带入公式计算。

$$\begin{aligned} V(\mu\text{L}) &= [V1(\text{mL})\times C1(\text{mg/mL})\times R]/[M\times C(\text{mM})]\times 10^6 \\ &= [1\times 2\times 20]/[150000\times 10]\times 10^6 = 26.66\mu\text{l} \end{aligned}$$

## 四、实验前准备

1. 按照上述公式计算所需要的生物素的量；
2. 提前20min从冰箱中取出试剂盒，使试剂盒各组分平衡至室温；
3. 用助溶剂（DMSO）将活性超级生物素配制成10mM（2mg超级生物素加440 $\mu\text{l}$ 助溶剂）

特别提示：

- A. 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 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱内，一月内可以使用，但是标记效率会降低；
- B. 试剂盒中超滤管为一次性产品，用完后，可用市售的相同截留分子量的超滤管替代；
- C. 生物素助溶剂使用完之后需要立即密封保存，防止吸潮。

## 五、操作步骤

(本操作步骤按照 1mg抗体的量进行标记)

1. 取1mg 待标记抗体于超滤管中，并加入不超过超滤管最大体积的标记缓冲液，12,000g离心10min；可以重复此步骤多次。最后一次超滤完成，可以加入适量标记缓冲液调整抗体的浓度到2mg/mL左右；

注意：

- A. 留意超滤管的最大体积和最大截留分子量，本实例超滤管的最大体积为0.5ml；
  - B. 如果待标记抗体浓度低时，可先超滤离心浓缩；
  - C. 如果待标记物含有游离的氨基（Tris、氨基酸或者其他干扰物，需要用标记缓冲液反复超滤确保其去除干净）。
2. 加入13.3  $\mu$ L至上述超滤管中，并轻轻吹打混匀。放入37 $^{\circ}$ C恒温箱中避光温育30min；
  3. 12,000g离心10min；
  4. 加入适量标记缓冲液至上述超滤管中，轻轻吹打混匀，12,000g离心10min。并重复操作多次，使未标记的生物素被彻底清除干净；
  5. 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，-20 $^{\circ}$ C保存。即为生物素标记抗体。

## 六、注意事项

1. 本试剂盒也可标记其它含有氨基（NH<sub>2</sub>-）的大分子物质的标记，包括蛋白、抗体等含有伯氨基的化合物分子。具体标记比例根据待标记物中氨基的数量确定；
2. 本试剂盒中的生物素助溶剂为DMSO，使用完毕后要密封干燥保存；
3. 本试剂盒配备了标记物保存液，实验人员也可以根据被标记物的特点不同，选择更合适的保存液；
4. 根据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最佳标记条件；
5. 根据试剂盒中提供的超滤管规格通常要求小于目标蛋白分子量至少一倍以上。比如IgG抗体分子量为150kDa，选择50K及以下的超滤管。IgM五聚体分子量虽然有970kDa，但其中含有部分单体，分子量只有190kDa，因此建议也选择50K及以下超滤管。