

生物素标记试剂盒

Biotin Labeling Kit

货号	超滤管最大体积	超滤管截留最小分子量	可标记抗体量
BF06093-3K-0.5mL	0.5mL	3kDa	0.2-10mg
BF06093-3K-4.0mL	4.0mL	3kDa	1.0-80mg
BF06093-3K-15mL	15mL	3kDa	5-300mg
BF06093-10K-0.5mL	0.5mL	10kDa	0.2-10mg
BF06093-10K-4.0mL	4.0mL	10kDa	1.0-80mg
BF06093-10K-15mL	15mL	10kDa	5-300mg
BF06093-30K-0.5mL	0.5mL	30kDa	0.2-10mg
BF06093-30K-4.0mL	4.0mL	30kDa	1.0-80mg
BF06093-30K-15mL	15mL	30kDa	5-300mg
BF06093-50K-0.5mL	0.5mL	50kDa	0.2-10mg
BF06093-50K-4.0mL	4.0mL	50kDa	1.0-80mg
BF06093-50K-15mL	15mL	50kDa	5-300mg
BF06093-100K-0.5mL	0.5mL	100kDa	0.2-10mg
BF06093-100K-4.0mL	4.0mL	100kDa	1.0-80mg
BF06093-100K-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型号

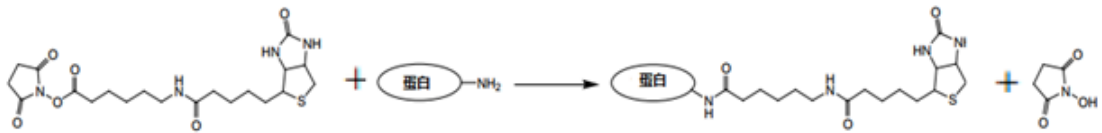
储存：见标签，有效期18个月

成分：

名称	BF06093-0.5mL		BF06093-4mL		BF06093-15mL		保存条件
	规格	数量	规格	数量	规格	数量	
活性生物素	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（DMSO）	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（NH₂-）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. 使用方法简单，无需额外准备试剂；
2. 节约时间，整个过程仅需 90min；
3. 已离心脱盐和去除游离的生物素，无需透析或者凝胶过滤；
4. 既可用于微量标记又可大量标记，每次可标记 0.2-2mg；

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：

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

其中：V(μL)为生物素的体积；V1(ml)为待标记物（蛋白/抗体/其他含有伯胺-NH2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（Dalton）；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。

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

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. 溶解活性生物素：加入适量的生物素助溶剂至活性生物素瓶中，使活性生物素至合理的



浓度，一般推荐的浓度为10mM（本试剂盒中的生物素分子量454.54，每毫克加入220 μ l助溶剂即为10mM）。

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 $^{\circ}$ 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，并加入适量体积的标记缓冲液，使抗体的终浓度为2mg/ml，12,000g离心10min；
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 μ L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 $^{\circ}$ 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，使终体积为0.5ml，并轻轻吹打混匀，12,000g离心10min。并重复操作多次；
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，置于-20 $^{\circ}$ C保存。

六、注意事项

1. 本试剂盒也可标记其它含有氨基（NH₂-）的抗原、HRP、多肽，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. 操作步骤5中，也可用标记缓冲液为回收标记抗体的缓冲液，也可使用其它任何缓冲液或保护剂；
4. 本试剂盒未开封前的有效期为18个月，请在有效期内使用。本试剂盒中的生物素加入助溶剂之后，如果使用不完，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，使用里量请酌情加大；超过一个月请不要再使用；
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；
6. 在步骤2中，标记其它抗体时，最好控制抗体的终浓度为2mg/mL，然后再根据抗体的量计算应加入活性生物素的体积。