



HRP 标记试剂盒

HRP Labeling Kit

货号	HRP 量	可标记抗体量	可标记蛋白量	最佳反应体积
BF06095-500	0.5mg	0.5mg	0.5-2mg	0.5ml
BF06095-1000	1mg	1mg	1-4mg	1ml
BF06095-5000	5mg	5mg	5-20mg	5ml

标记比例：（抗体:HRP 标记质量比为 1: 1；抗原:HRP 质量比为 1: 4 左右）；

声明：本表只做参考，具体还是需要实验人员根据实际情况摸索条件。

成分：

名称	BF06095-5000		BF06095-1000		BF06095-500		保存条件	备注
	规格	数量	规格	数量	规格	数量		
活化HRP液体	1mg/支	5支	1ml/支	1支	0.5mg/支	1支	4℃	10mg/ml
标记缓冲液	30ml/支	2支	15ml/支	1支	5ml/支	1支	4℃	
标记终止液 (冻干粉)	2.5mg/支	5支	2.5mg/支	2支	2.5mg/支	1支	4℃	用前用去离子水溶解至 2.5mg/ml
标记物保存液	10ml/支	1支	2ml/支	2支	2ml/支	1支	4℃	

冰袋运输，有效期6个月。

一、产品描述

本试剂盒采用改良的碘氧化法活化辣根过氧化物酶（HRP），经过氧化以后活化的HRP可以与待标记物的游离氨基结合，发生希夫碱反应（Schiff's Base Reaction）。本品本试剂盒适用于带有游离氨基的物质的标记，比如：带有游离氨基（伯胺）的小分子化合物，蛋白或抗体。

二、使用方法(以标记抗体为例详细说明标记实验流程)

1. 实验前准备

（从4℃中取出HRP标记试剂盒，室温条件下平衡30分钟），使各组分充分解冻后混匀。

活化HRP干粉加入去离子水复溶成10mg/ml（例如0.5mg活化HRP干粉加50ul ddH₂O复

溶)，得到活化HRP溶液。

准备标记物：待标记物以0.01M PBS（pH7.4）为佳，不含有甘油、叠氮钠、氨基物质（包括甘氨酸、Tris等）、EDTA等物质。如果待标记抗体含有以上物质，需用0.01M PBS（pH7.4）缓冲液进行充分透析或超滤管超滤，以除去以上物质，保证标记效率。调整待标记物的浓度至适当浓度，抗体调整到浓度2mg/ml；对于小分子物质，需要摸索浓度，保证HRP的比例过量。如果不能确保HRP过量，标记完之后最好透析或过滤除去未标记的小分子物质。

2. 标记反应

向待标物的溶液中加入1/10体积的标记缓冲液，用移液器反复吹打几次以充分混匀，避免产生气泡；取等质量活化的HRP到待标记物中，用移液器反复吹打几次以充分混匀，避免产生气泡，室温避光反应2小时即可。

3. 标记反应终止

将反应终止液干粉管中加入1ml去离子水配成反应终止液（2.5mg/ml），取适量的反应终止液加入步骤2的标记反应管中，比例为每10 μ l反应液加入1 μ l反应终止液。充分混匀，室温放置1小时。（注：反应终止液不稳定，不能保存，请现配现用）

4. 标记物产物收集与保存

终止完成后，加入等体积的标记物保存液，充分混匀，置于-20 $^{\circ}$ C保存。

Trouble Shooting

问题	原因	方法
标记后抗体效价低	1) 抗体溶液中残留了游离氨基 2) 显色系统失效 3) 有些抗体较脆弱，酶标后易失活	1) 进一步透析 2) 先确认显色系统工作正常 3) 采用其他方法标记