



## HRP 快速标记试剂盒

品名	货号	规格
HRP 快速标记试剂盒 (最小可标记量为 0.1mg)	GL2001	0.5mgx2

**原理与应用:** 高碘酸钠氧化法活化辣根过氧化物酶 (HRP) 的糖基, 经过活化的 HRP 带有醛基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) 的抗体、蛋白或者小分子化合物。本试剂盒采用特有稳定技术, 活化 HRP 保存在液体中, 吸取方便, 最小可以标记 100ug, 让您的标记工作更易把控和操作!

### 试剂盒组成:

预活化 HRP	5mg (250UL 液体/支)
标记启动液	2ml
反应终止液干粉	5 管 (每管可配 1ml)
标记物保存液	6ml
备用透析袋(MD6, 截留量 12KD)	10X5CM
说明书	1 份

### 操作步骤:

1. 首先去除待标记抗体或蛋白中的叠氮钠、以及含有氨基的缓冲成分物质, 比如甘氨酸、Tris 等, 还有 EDTA 等物质, 可采用透析和超滤的办法置换缓冲液, 以去除干扰物质达到最佳标记效果! 透析或超滤缓冲液首选 0.01M CB,PH:9.6 缓冲液(说明书附件有经验配方无需调整 PH), 若实验室没有碳酸盐试剂再采用 0.01M PBS (PH:7.0-7.4 均可) 透析或超滤置换缓冲液, 最后调整抗体或蛋白的浓度到 2MG/ML。如果抗体和蛋白不含上述这些干扰物质可以直接用上述 PBS 或 CB 缓冲液调整浓度到 2MG/ML 备用。
2. 从 4°C取出 HRP 标记试剂盒, 使各组分充分混匀。
3. 取 500ul 抗体或蛋白 (约 1mg), 加入 50ul 预活化 HRP(1mg)液体中, 用移液枪反复吹打几次混匀, 混匀后加入 HRP 标记启动液 99ul (加入启动液量依据: 每 10ul 蛋白和 HRP 混合液加 1.8ul 启动液) 继续混匀数次, 避免产生气泡。然后避光 30°C-37°C温箱偶联反应 2-3 小时, 若遇快要下班也可放 4°C反应 24 小时左右 (此法效果一样或者更好不必担心)。
4. 偶联结束将反应终止液粉管中加入 1mL 去离子水混匀, 取 50ul 加入 3 所述反应液中 (加入终止液量依据: 每 1mg HRP 加入终止液 50ul), 充分混匀, 室温放置 1 小时或者 4°C 2 小时。

5. 终止完成后,可直接加入等体积的标记物保存液,充分混匀,置于-20℃保存。如果想更上长期的保存建议先用 0.067M PBS PH:7.0 (说明书附件有经验配方)透析或超滤置换缓冲液后再加标记物保存液。这样可以保存 3 年左右甚至更长。

**注意事项:**

1、待标记物缓冲液成分过于复杂以及含有氨基小分子和 NAN3 的初始缓冲液必须透析或超滤置换掉,请采用 0.01M PBS (PH:7.0-7.4 均可) 或 0.01M CB,PH:9.6 缓冲液均可。

2、如果待标记物不是抗体是其它蛋白,那么请根据分子量参考蛋白和酶用量:若分子量在 40KD 以上建议 1mg 蛋白使用 1mg HRP;如果分子量在 30KD 左右,建议 1mg 蛋白使用 1.3mg HRP;如果分子量在 20KD 左右,建议 1mg 蛋白使用 2mg HRP;如果分子量在 10KD 左右,建议 1mg 蛋白使用 4mg HRP;此时启动液和终止液请按步骤 3 和 4 描述标准适量加入;如果标记量为小于 1mg 的抗体或蛋白(最小可以 0.1mg),HRP 和其它试剂加入量按比例折算即可。

3、小分子药物不建议直接标记 HRP,因为 HRP 的结构不能结合足够的药物会造成效价偏低,这种情况建议先偶联 BSA 增加小分子偶联量再进行 HRP 标记,这样效果会非常好。

4、如果待标记物含有其它蛋白需要把无关蛋白同样计算进去,尽快如此也请您慎重选择这样的样品进行标记。

5、本试剂盒保存 4℃可以保证 1 年内开启有效,活化 HRP 开启后小心取用切勿污染碱性物质。

6、终止液干粉一共 5 支,原则上每一支配好后仅限一次性使用,因此您可以根据您的实验总量合理配制使用。

官方网址: <http://www.genesion.com.cn>  
订货热线: 4006169114、020-84224925  
Email:whiga22@126.com

