



醛基活化HRP

产品编号：6002-0.2

活化 HRP 的醛基与 IgG 抗体的氨基反应形成酰胺键，从而将 HRP 标记到 IgG 抗体上。
本试产品可标记 20~200 μ g IgG 抗体。

规格

活化 HRP: 0.2mg

试剂盒不提供需要自备或单独购买的材料和设备

PBS, 0.01mol/L, pH7.4

碳酸缓冲液 0.5mol/L pH9.6

硼氢化钠 4mg/ml, 现配现用

Tris-HCl, 0.5mol/L, pH7.4

超滤管 0.5ml (MWCO=10K) 1 支。

运输、储存和有效期

收到产品后将置于-20 $^{\circ}$ C. 有效期 1 年

操作方法

1. 抗体浓缩和液体置换

如果抗体浓度低于 1mg/ml, 或稀释液中含有伯胺基 (Tris-HCl, 甘氨酸), NaN_3 等干扰标记的成分, 需要按下述方法进行缓冲液的置换:

1.1. 在超滤管中加入适量的抗体溶液, 14000g 离心, 超滤管中残留的部分为浓缩抗体。

1.2. 如果操作目的是浓缩抗体, 继续操作 1.3, 如果目的是去除干扰标记的分子, 加 PBS 于超滤管中, 14000g 离心, 超滤管中残留抗体, 继续 1.3。

1.3. 在超滤管中加入适量的 PBS, 使抗体的浓度为 1~10mg/ml, 用移液器不断洗吹膜上的蛋白质使之混匀, 注意不要刺到膜。

2. 抗体标记

2.1 使用浓度 1~10mg/ml 抗体进行标记, 取抗体 0.2mg(相当于 20~200 μ l 如果抗体是冻干的, 加入 100 μ l PBS)于活化 HRP 的管中, 混匀, 加入 10 μ l 的碳酸缓冲液。

2.2 室温、避光孵育 3 小时, 在摇床上摇动。

2.3 加 1/10 反应体积 4mg/ml 硼氢化钠(现配现用)。

2.4 涡旋混匀, 室温黑暗孵育 15 分钟。

2.5 加 100 μ l 0.5mol/L 的 Tris-HCl 到反应管中。

2.9 涡旋混匀, 室温黑暗孵育 15 分钟。

2.10 在超滤管中将缓冲液置换为 PBS(参考 1.抗体浓缩和液体置换)

2.11 抗体中加入 BSA, 5mg/ml, 防腐剂 ProClin300 或硫柳汞, 4 $^{\circ}$ C 稳定至少 1 个月。如长期保存, 可加等量甘油, 混匀后-20 $^{\circ}$ C 保存。

注意事项

1. 叠氮钠是 HRP 的抑制剂, 因此, 避免使用叠氮钠作为 HRP 标记物的防腐剂。

2. 标记操作中 HRP 与 IgG 的摩尔比约为 4:1, 可以通过增加或减少摩尔比可以增加或降低标记率。

3. 同样量的抗体, 减少反应体积(相对增加反应浓度)可以增加反应效率。

4. 标记后通常可以直接使用。HRP 结合物的进一步纯化可以降低非特异反应。非结合 HRP 可以通过凝胶过滤或亲和层析的方法除去。