



活化HRP

产品编号：6002-1

活化 HRP 可用于标记含有初级氨基的可溶性物质（如多肽和蛋白质），特别适合标记抗体，抗体和 HRP 偶联后可用于 ELISA、免疫组化和免疫印迹。

本试产品 1 支可标记~2mg IgG 抗体。

规格

活化 HRP：1mg/支

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 4ml (MWCO=10K) 1 支。

运输、储存和有效期

收到产品后将置于-20°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 1mg(相当于 100~1000 μl 如果抗体是冻干的, 加入 100 μl PBS)于活化 HRP 的管中, 混匀, 加入 100 μl 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 μl 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°C 稳定至少 1 个月。

如长期保存, 可加等量甘油, 混匀后-20°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。