

NHS-生物素

产品编号: 6003

NHS-生物素(分子量 341) 与含有氨基的蛋白质反应, 形成酰胺键, 从而将生物素连接到蛋白质上。

NHS-生物素应用于标记抗体或其它含有伯安 (-NH₂) 的蛋白质。

规格

本产品包装规格为 5mg。

运输、储存和有效期

储存: -20℃ 保存, 可保存 2 年, 冷藏运输。

NHS-生物素可溶于二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 溶解度约 50 mg/mL, 在干燥的 DMF 中至少可以存放一个月保持活性, 在二甲基亚砷 (DMSO) 中的溶解度可达 30 mg/mL。NHS-生物素在水溶液中很快降解。

操作方法

需预先准备的试剂

- 0.01M pH7.4 PBS 1000ml (配制方法: Na₂HPO₄·12H₂O 2.90g, NaH₂PO₄·2H₂O 0.296g, NaCl 8.77g, 溶解于去离子水或蒸馏水至 1000ml)。
- 0.1M, pH9.6 碳酸缓冲液 (Na₂CO₃ 3.0g, NaHCO₃ 5.86g 溶解于去离子水或蒸馏水至 1000ml)。
- 二甲基甲酰胺 (DMF) 或二甲基亚砷(DMSO)。
- 除盐柱 (Sephadex G-25 或透析袋 (截留分子量 1~2 万))。

抗体标记:

- 将亲和层析纯化的抗体或IgG对0.1M, pH9.6碳酸缓冲液透析后将蛋白质的浓度调到 5~10mg/0.5ml, 测量免疫球蛋白总体积。
- DMF (或DMSO)将NHS-生物素溶解, 配制成浓度10mg/mL, DMF和DMSO在使用前最好除水干燥, 溶解后可放-20 °C至少1个月以上不影响标记。未经除水的DMF或DMSO溶解 NHS-LC-生物素只能现配现用, 因为很快就会降解不能用于标记。
- 取100u1生物素溶液加入1中, 室温搅拌4小时。在 2~8 °C对0.01M pH7.4 PBS透析, 每4小时换液一次, 如果形成沉淀, 先将沉淀过滤掉, 透析24小时, 或过除盐柱。
- 透析后, 将生物素标记的抗体分装, 储存在-20 °C。

注意事项

- 称取生物素之前, 应将NHS-生物素置于室温, 以防止吸潮, 然后开盖迅速称量, 剩余部分放回-20 °C储存。
- NHS-LC-生物素溶解于DMF和DMSO需现配现用, 若需保存, DMF和DMSO需预先除水。
- 生物素标记抗体时最佳的分子比在1:50~1:50之间, 抗体的浓度和抗体-NH₂的数量都会影响二者比例, 标记率高可提高抗体检测的敏感性, 但过高标记率可能使抗体失活。所以实验者要根据自己的标记对象, 摸索合适的比例。实验步骤中是推荐的标记方法, 但不一定是每个实验的最佳方案。

