

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。

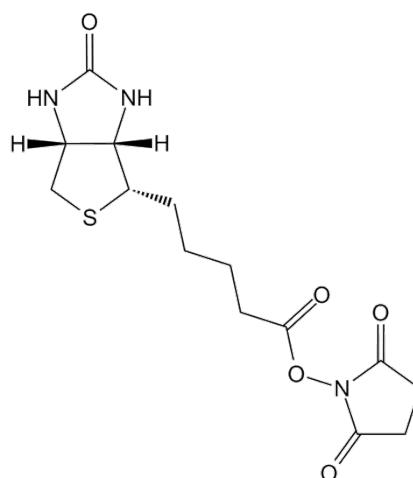
规格

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，在二甲基亚砜 (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

1. 0.01M pH7.4 PBS 1000ml (配制方法：
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 2.90g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.296g, NaCl 8.77g, 溶解于去离子水或蒸馏水至 1000ml)。
2. 0.1M, pH9.6 碳酸缓冲液 (Na_2CO_3 3.0g, NaHCO_3 5.86g 溶解于去离子水或蒸馏水至 1000ml)。
3. 二甲基甲酰胺 (DMF) 或二甲基亚砜(DMSO)。
4. 除盐柱 (Sephadex G-25 或透析袋 (截留分子量 1~2 万))。

抗体标记：

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 透析后，将生物素标记的抗体分装，储存在-20 °C。

注意事项

1. 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。
2. 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。
3. 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。