HRP快速标记试剂盒

高效 • 稳定 • 低至0.1mg标记量 HRP Conjugation Kit (Rapid)

在您使用本产品前请认真阅读说明书，这对您顺利完成实验很有帮助。

产品名称

HRP快速标记试剂盒（每次标记量可以低到0.1mg）

储存方法

建议避光存放在 4℃ (2～8℃)

原理与应用

利用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，每次标记量可以小到100μg，让您的标记工作更易把控和操作！

试剂盒组成

预活化HRP（液体）、HRP标记启动液、反应终止液（干粉×2瓶/根据规格可选）、标记物保存液，含详细操作组分。具体规格及数量详见试剂盒内标签。

操作步骤

1. **样品预处理：** 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（如甘氨酸、Tris、EDTA等），可采用透析和超滤置换缓冲液。优选0.01M CB, pH 9.6（附件配方无需调pH）；若没有碳酸盐试剂则采用0.01M PBS (pH 7.0-7.4)透析或超滤，然后调整抗体或蛋白浓度到**2 mg/mL**。如无干扰物质可直接用PBS或CB调整浓度备用。
2. **准备试剂：** 从4℃取出HRP标记试剂盒，使各组分充分混匀。
3. **偶联反应：** 取250μL抗体或蛋白（约0.5mg），加入50μL预活化HRP(0.5mg)液体中，用移液枪反复吹打混匀。加入HRP标记启动液54μL（每10μL蛋白和HRP混合液加1.8μL启动液），混匀避免气泡。避光30℃-37℃温箱偶联2-3小时，或4℃反应24小时（效果一致或更好）。
4. **终止反应：** 将反应终止液粉管中加入1mL去离子水混匀，取25μL加入上步反应液中（依据：每1mg HRP加入终止液50μL），充分混匀，室温放置1小时或4℃ 2小时。
5. **保存：** 终止完成后，直接加入等体积的标记物保存液，充分混匀，置于-20℃保存。若需超长期保存（3年以上），建议先用0.067M PBS pH 7.0透析或超滤置换缓冲液后再加标记物保存液。

注：若标记量低于0.5mg（最低100μg），HRP及其他试剂按比例折算。

附件：缓冲液配方（经验配方，无需调pH）

① **0.01M CB，pH 9.6 缓冲液：** 取$NaHCO_3$ 0.67g 和 Na_2CO_3 0.21g，加水至1L溶解完全即可。

② **0.067M PBS，pH 7.0 缓冲液：** 取$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 5.35g、$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 11.7g 以及 NaCl 9g，加水至1L溶解完全，然后添加NaOH 0.35g混匀即可。

注意事项

1. 待标记物缓冲液成分复杂或含氨基小分子及NaN_3必须透析/超滤置换，请采用0.01M PBS(pH7.0-7.4)或0.01M CB(pH9.6)。
2. 若非抗体蛋白：分子量＞40KD建议1mg蛋白使用1mg HRP；30KD左右使用1.3mg HRP；20KD左右使用2mg HRP；10KD左右使用4mg HRP。启动/终止液按比例加入。标记量低至100μg时试剂按比例折算。
3. 小分子药物不建议直接标记HRP（效价偏低），建议先偶联BSA增加小分子偶联量再行HRP标记。
4. 待标记物若含有其他蛋白，需将无关蛋白计算在内，慎重选择标记样品。
5. 本试剂盒4℃保存1年内开启有效；活化HRP取用时应避免污染碱性物质。
6. 终止液干粉一共2支，每支配好后仅限一次性使用，请根据实验总量合理配制使用。

特别提示： 如果您在实验过程中遇到任何困难，请及时联系我们技术团队获取支持。

标记用量参考（非抗体蛋白）

- 分子量 ≥40KD ： 1mg蛋白 / 1mg HRP
- 30KD ： 1mg蛋白 / 1.3mg HRP
- 20KD ： 1mg蛋白 / 2mg HRP
- 10KD ： 1mg蛋白 / 4mg HRP

启动液和终止液按步骤3、4描述标准适量加入；小于0.5mg标记量按比例折算，但不得低于100μg。

注：本说明依据0.5mg标记体系(抗体250μL，2mg/mL)描述。如待标记物量不同，请严格按照比例调整各组分用量。

仅供科研使用 活化HRP及试剂盒组分2-8℃避光保存 避免反复冻融及污染碱性物质 快速标记 | 低至0.1mg起始量 技术支持请联系我们