

# HRP Conjugation Kit

**Cat No: B1OK1970-P**

## Description

辣根过氧化物酶（Horseradish Peroxidase, HRP）是免疫学实验和检测重要工具酶，应用广泛。传统的碘标记法和戊二醛标记法步骤繁琐，需要准备大量的试剂，如果试剂比例使用不合理可能往往导致实验的失败，本产品反复分析 HRP 结构特点的基础上，将 HRP 采用高效活性偶联试剂活化，可以更高效共价结合蛋白质或抗体是上的-NH<sub>2</sub>；本产品中活化 HRP 为干粉状态，性质稳定，便于运输和长期储存。

百欧泰生物提供的 HRP Conjugation Kit 适用于带有游离-NH<sub>2</sub> 氨基的物质的 HRP 标记，比如：带有伯胺的小分子化合物，蛋白或者抗体。活化 HRP 在标记缓冲液催动下可以与蛋白质或抗体上-NH<sub>2</sub> 发生希夫碱反应。

## PRODUCT INFORMATION

预活化冻干 HRP/HRP	1 mg
碱性调整缓冲液/Buffer(pH=9.5)	100 ul
酸性调整缓冲液/Buffer(pH=6.5)	100 ul
反应终止液干粉/Sodium Cyanoborohydride Solution	100 ul
淬灭缓冲液/Quenching Buffer	100 ul
纯化柱和收集管/ Purification Column+Collection Tube	各 2 支

适用范围：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）的小分子化合物，蛋白或者抗体。

标记比例（质量比）：抗体:HRP=1:1；抗原:HRP=1:4

## Note

待标记物以 0.01M pH7.4 PBS 环境为佳，不应含有甘油、叠氮钠、氨基物质（包括甘氨酸、Tris 等）EDTA 等物质。如果含有以上物质，需用 0.01M pH7.4 PBS 标记缓冲液进行充分透析或者超滤管超滤以除去以上物质保证标记效率；调整待标记物的浓度至适当的浓度，抗体调整的浓度为 2mg/mL 左右；对于小分子物质需要实验者摸索浓度，保证 HRP 的比例过量，如果不能确保 HRP 过量的话，标记完之后最好透析或者过滤除去未标记的小分子物质。

## Storage

2-8°C。有效期：3 个月

## Steps

### 1. Antibody preparation

- 1.1. 建议抗体浓度在 1-2mg/ml 之间。
- 1.2. 抗体中不要含有 BSA 或其它蛋白质成分。注：IgG 制剂中的游离氨基，如 Tris 或甘氨酸，会干扰结合。如有必要，将 IgG 透析或脱盐至碳酸氢盐缓冲液中，以去除游离氨基。
- 1.3. 抗体缓冲液中不要含有氨基的盐（如：Tris, NaN<sub>3</sub>等），pH 在 7.2 为宜。

### 2. Antibody labeling

- 2.1. 抗体中加入适量碱性调整缓冲液（每 100ul 抗体中加入 5ul 调整缓冲液），碱性。
- 2.2. 使用 100ul 超纯水溶解预活化的过氧化物酶（HRP），然后加入抗体中（1mg IgG），用移液枪反复吹打或 vortex 混匀,缓慢加入。
- 2.3. 将抗体-HRP 混合物置水平摇床或旋转混匀仪，在摇动状态下室温避光（反应管可包裹锡箔纸）反应 1h。
- 2.4. 抗体中加入适量酸性调整缓冲液（每 100ul 抗体中加入 2ul 调整缓冲液），中性。
- 5.在通风橱中，加入 10μL 反应终止液，在室温下反应 20 分钟。
- 6.加入 20μL 淬灭缓冲液，在 4 度下反应 15 分钟。

### 3. Conjugate Purification

- 3.1. 取出纯化柱，装入分子筛填料，将纯化柱 3000rpm 离心 2min。
- 3.2. 暂时保留收集管中的缓冲液。
- 3.3. 将纯化柱移至新的收集管上，吸取抗体-HRP 偶联物置纯化柱中填料的表面。如果样品体积小于 50ul，应先用 3.2 保留的缓冲液将液体量补足 50ul。上样体积最大不要超过 100ul。
- 3.4. 待样品渗入填料后，3000rpm 离心 2min。为保证去除效果，此操作可重复 1-2 次。
- 3.5. 通常将抗体-HRP 标记物 4℃ 避光保存待用，长期请在 -20℃ 避光保存。偶联抗体的最佳储存条件必须根据实验、抗体稳定性和最佳储存条件确定。注意：叠氮钠抑制 HRP 酶活性，不可加入。

#### 附 抗体标记用量参考表

HRP	可标记抗体/抗原量	最佳反应体积
500 ug	500 ug-2 mg	500 ul
1 mg	1 mg-4 mg	1 ml
4 mg	5 mg-20 mg	5 ml

标记比例（质量比）：抗体:HRP=1:1 ;抗原（大分子蛋白）:HRP=1:4

## Contact Us

**Beijing Biotyscience Co. Ltd.**

**QQ:** 499854788; 82458988

**WeChat:** 13681256816; 15511114213

**Email:** info@biotyscience.com

**Tel:** 400-669-8850

15511114213; 13681256816