上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：400-666-5481
网址：www.shyuanye.com
邮箱：sky@shyuanye.com

HRP标记试剂盒（SMCC法）

产品货号	产品名称	产品规格
R46126	HRP标记试剂盒(SMCC法)	0.1 mg

产品介绍

HRP 标记试剂盒(SMCC 法)采用简便快捷的流程，实现抗体的HRP 标记。该试剂盒提 供标记100 μg 抗体所需的所有试剂和纯化柱，以及详细的分步操作指南。

HRP 标记试剂盒(SMCC 法)是一种含巯基反应性标记试剂盒。试剂盒提供共轭试剂， 该试剂与伯胺(-NH_2)反应，为抗体引入巯基基团(-SH), 之后，抗体上的巯基可与修饰后的 HRP形成共价键，从而快速实现 HRP 与抗体的偶联。

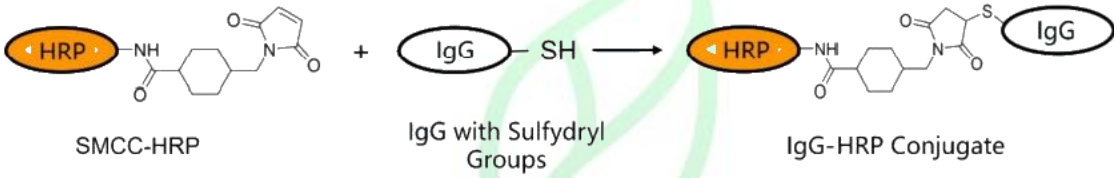

图1 HRP 标记试剂盒(SMCC法)(R46126)标记原理图

产品组份

R46126	Components	1 reaction	Storage	Quantity Per reaction
R46126A	SMCC Activated HRP	0.1 mg	-20℃.Store in the dark	0.1 mg for labeling 100 μg of antibody.
R46126B	Conjugation Buffer	10 mL	RT.	Prepare according to instructions.
R46126C	Conjugation Reagent	2 mg	2-8℃.Do not freeze.	Prepare according to instructions.
R46126D	终止剂	2 mg	2-8℃.Do not freeze.	Prepare according to instructions.
R46126E	DMSO	1 mL	RT.	Prepare according to instructions.
R46126F	离心式脱盐柱	1 EA	2-8℃.Do not freeze.	1 EA for 1 reaction.
R46126G	收集管	1 EA	RT.	1 EA for 1 reaction.

使用方法

1. 抗体处理

向抗体添加巯基：使用共轭试剂，该试剂可修饰伯胺。确保抗体具有游离的巯基，以便 与 SMCC Activated HRP的马来酰亚胺基团发生反应。

1.1 向抗体中加入 Conjugation Buffer 使抗体浓度调整至3-5mg/mL。建议采用较高蛋白浓 度，若浓度低于3 mg/mL, 则需对抗体进行浓缩处理；若IgG 非无盐状态或已处于溶 液中，需通过浓缩换液或者透析法将抗体置换至Conjugation Buffer;

1.2 向 Conjugation Reagent 中加入1mL 的纯水，混匀。注：Conjugation Reagent 溶液 须现用现配；

1.3 每100 μg 抗体溶液中加入1μL Conjugation Reagent 储备液，涡旋混合。室温孵育反 应30 min;

1.4 在孵育期间准备脱盐柱；

1.4.1 打开脱盐柱底部，将脱盐柱放入配套的管中，打开脱盐柱盖，1000×g 离心2min, 弃 去洗脱液；

注意：使用非水平转头的情况下，由于离心会使树脂压实形成一个向上的斜面，该斜 面的方向宜在后续步骤中保持，所以在脱盐柱外壳上的斜面向上位置做标记，在随后 的离心步骤中需要调整好离心管的放入方向，确保离心后斜面的方向和位置不会改变。

1.4.2加入500 μL Conjugation Buffer,1000×g 离心2 min, 弃去洗脱液；

1.4.3重复步骤1.4.2两次，第三次洗涤时加入Conjugation Buffer 直到进入下一步骤时再 进行离心；

1.4.4第三次洗涤离心后，脱盐柱中应无溶液残留，如有残留，可短暂离心直至溶液完全排 出 ；

1.5 将准备好的脱盐柱放入新的收集管中，并将步骤1.3中的全部样品加入脱盐柱中，若体积不足60μL, 用 Conjugation Buffer补足；1.61000× g 离心2 min, 保留洗脱液，得到巯基化的IgG;

2. 与HRP 进行偶联

2.1 向0.1 mg SMCC Activated HRP 粉末中加入1.6中巯基化的抗体，充分混合，室温避 光孵育1h;

2.2 阻断过量的游离巯基

2.2.1 向终止剂中加入500μL DMSO,涡旋混匀。注：终止剂溶液须现用现配；

2.2.2 向步骤2.1 制备的偶联混合液中加入1 μL 终止剂，充分混合，室温避光孵育20 min;

2.3 偶联反应已完成。反应混合物中应主要含有 HRP-抗体偶联物，并含有少量游离的HRP 和抗体。未偶联的HRP 不应干扰检测。

偶联物保存

向HRP-抗体偶联物添加50%甘油，-20℃避光保存

注意事项

1. 待标记的抗体或蛋白最好溶解于无氨的缓冲液中(如：MES,MOPS,HEPES,PBS), pH 为6.5-8.5,且溶液中无 NaN_3 等防腐剂(若含有此类物质需先纯化后，再标记);

2. 在正式实验前，需将试剂恢复至室温，较低的温度会影响偶联效果；

3. 脱盐柱建议一次性使用；

4. 收到本产品后请立即使用或按照说明书推荐的条件保存。随着保存时间的延长， Activated HRP的酶活力和标记能力可能会有一定程度的下降；

5. 操作过程中，务必穿戴实验服、一次性手套及防护装备；

6. 所有产品仅限于研究用途。