天净沙系列

CAT#:CAS:58-85-5

常温运输，4℃保存

天净沙

生物素

Biotin

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是 98%的生物技术级的生物素，又称维生素 H，在分子与细胞生物学领域，依托生物素-链霉亲和素极强特异性亲和配对，被广泛用作核酸、蛋白、细胞的分子标记标签，可用于蛋白互作邻近标记、细胞膜表面蛋白捕获富集、原位杂交探针标记等实验场景，是生化与分子实验中最经典的标记示踪工具之一。

规格及成分

本产品使用 logo 热封袋包装

成分	编号	规格	包装
生物素	CAS：58-85-5	0.5 g	1.5 mL 本色管
使用手册	CAS：58-85-5sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输，4℃保存，有效期一年。

自备物品

无。

使用流程

以细胞膜表面蛋白生物素标记富集实验为例，仅供参考，以具体实验为准。

1. 贴壁细胞培养至培养皿汇合度 80%，预冷 PBS 洗涤细胞 3 次，彻底去除培养基中血清与杂蛋白，全程冰上操作抑制细胞内吞，避免生物素试剂被吞入胞内标记胞内蛋白。
2. 取生物素粉末，用无氨基、无 Tris 的预冷 PBS 稀释至终浓度 0.5 mg/mL，现配现用；向培养皿中加入足量生物素标记液，完全覆盖细胞单层，4℃避光摇床轻柔孵育 30 min。
3. 弃去标记液，加入含 100 mM 甘氨酸的 PBS 溶液，室温放置 10 min，甘氨酸中和未反应的活化生物素，淬灭共价标记反应，避免非特异性结合。
4. 预冷 RIPA 裂解液（添加蛋白酶抑制剂）裂解细胞，刮取细胞悬液，12000×g，4℃离心 15 min，取上清。
5. 取链霉亲和素偶联磁珠，用裂解液洗涤磁珠 3 次；将磁珠与蛋白上清混合，4℃旋转摇床结合 2 h，让生物素标记的膜蛋白与磁珠充分结合。
6. 磁吸分离弃上清，洗涤缓冲液漂洗磁珠 4 次去除非特异吸附杂蛋白；加入 SDS 上样缓冲液，95℃煮沸 5 min，将结合在磁珠上的生物素标记膜蛋白洗脱下来。
7. 洗脱产物可直接进行 SDS-PAGE 电泳、WesternBlot 鉴定目标膜蛋白，或送液相色谱-质谱联用完成膜蛋白组定性定量分析。

关联产品

中性亲和素蛋白