

Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)

产品编号	产品名称	包装
P0630S	Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)	20-50次
P0630M	Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)	100-250次
P0630L	Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)	500-1250次

产品简介:

- 碧云天研发的Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)(Biotin Labeling Kit for Avi-tag Protein with BirA)是一种通过生物素连接酶(BirA)对Avi标签融合蛋白或多肽快速、高效地进行生物素标记的试剂盒。生物素标记的蛋白可使用基于Streptavidin或Avidin方法进行纯化或检测,例如使用Streptavidin磁珠对生物素标记蛋白进行纯化,或用HRP等标记的Streptavidin对生物素标记蛋白进行检测。
- 本试剂盒中的生物素连接酶(Biotin-protein ligase, BirA)来源于*E.coli*,由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的重组蛋白,纯度高,活性强,没有额外的标签,不影响生物素标记蛋白的后续检测和纯化。BirA可在ATP存在的条件下,高效活化生物素(D-Biotin)形成生物素酰-5'腺苷酸,并特异性地将生物素连接到Avi标签的赖氨酸残基上,从而对目的蛋白进行快速、高效的生物素标记(图1)。

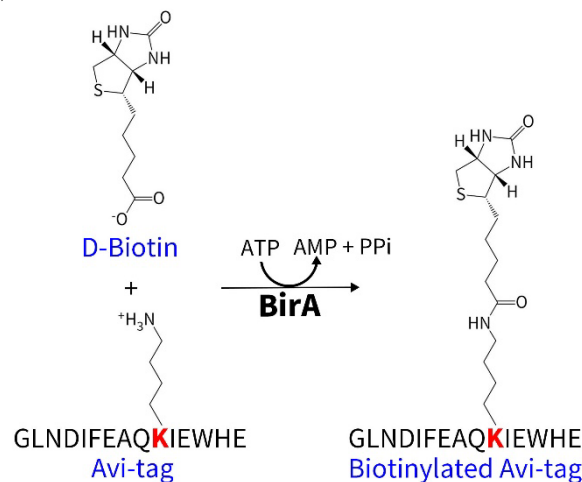


图1. 碧云天Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)的原理图。

- Avi标签是由15个氨基酸(GLNDIFEAQKIEWHE)组成的短肽标签,在ATP和生物素存在的条件下,BirA在Avi标签的赖氨酸残基上连接一个生物素,从而实现目的蛋白的生物素标记[1]。生物素连接酶BirA特异性的生物素标记Avi标签有多方面的优点。Avi标签小且对融合蛋白的影响非常小,只针对Avi标签上的Lys残基进行特定位置的生物素标记,生物素标记效率高,可重复性好;体内或体外均可进行标记,标记后的蛋白与链霉亲和素(Streptavidin)的亲合力高,从而使Avi-tag技术可以应用于目的蛋白的固定吸附、纯化和检测等;相比于传统生物素化学标记的非特异性位点的标记,BirA催化的反应条件更温和、更简单,对被标记蛋白活力影响小,酶活效率高,标记特异性强[1]。
- 生物素(Biotin)与亲和素(Avidin)或链霉亲和素(Streptavidin)之间的非共价相互作用是已知的几乎是最强的蛋白-配体的相互作用[2]。Avidin或Streptavidin是一种4聚体蛋白,可以同时高度特异性地结合4个生物素分子,是一种天然存在的生物分子相互作用体系。生物素与Avidin或Streptavidin的结合系统,被称为生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素系统,该系统是一种具有高度亲和力、高灵敏度、特异性强和稳定性好等优点的信号放大标记技术,已广泛应用于多种检测系统[3]。
- 本试剂盒用于体外生物素标记Avi标签融合蛋白的效果参考图2。

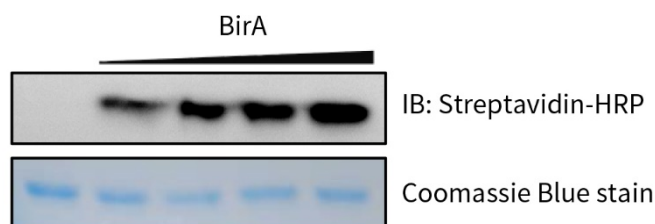


图2. 碧云天的Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)进行体外生物素标记Avi标签融合蛋白的效果图。在50μl反应体系中,加入

相同量带有Avi标签的蛋白，及一定浓度的生物素连接酶(BirA)，30°C孵育30分钟，反应完毕后加入SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5X)(P0015)，使用BeyoGel™ Plus PAGE预制胶(Hepes, 4-15%, 10孔)(P0519)电泳。一份样品进行Western，使用辣根过氧化物酶标记Streptavidin (A0303)孵育，检测Avi标签融合蛋白被生物素标记的效率(上图)，Western印迹成像由BeyoImager™ 600化学发光成像系统(EI600)完成；另一份样品作为Input，使用BeyoBlue™考马斯亮蓝超快染色液(P0017F)对Avi标签融合蛋白进行染色(下图)。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- 用于体外Avi标签蛋白的生物素标记反应时，按照20μl或50μl反应体系，蛋白(多肽)终浓度40μM计算，本产品小包装可以用于50或20个样品的标记，中包装可以用于250个或100个样品的标记，大包装可以用于1250个或500个样品的标记。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P0630S-1	BirA (100X)	10μl
P0630S-2	Biotin Ligase Buffer A (10X)	100μl
P0630S-3	Biotin Ligase Buffer B (10X)	100μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0630M-1	BirA (100X)	50μl
P0630M-2	Biotin Ligase Buffer A (10X)	0.5ml
P0630M-3	Biotin Ligase Buffer B (10X)	0.5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0630L-1	BirA (100X)	50μl×5
P0630L-2	Biotin Ligase Buffer A (10X)	2.5ml
P0630L-3	Biotin Ligase Buffer B (10X)	2.5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，一年有效。

注意事项：

- 建议首次解冻Biotin Ligase Buffer B (10X)后进行分装，反复冻融会影响组分活性。
- BirA的用量、反应温度和时间等可根据不同实验预先进行适当摸索和优化，例如BirA的浓度可在0.2X-2X之间适当调整。
- 本产品的蛋白(多肽)底物为带有Avi标签的融合蛋白或多肽，碧云天提供一系列Avi标签的原核表达质粒：pET-N-His-Avi (D3002)，pET-His-MCS-Avi (D3005)，pET-N-Avi-His-SUMO3 (D3007)，D3009 pET-N-His-SUMO3-Avi (D3009)；真核表达质粒pCMV-N-3X Flag-Avi-Neo (D2973)，pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMO^{EU1}-Neo (D2975)，pCMV-N-3X Flag-SUMO^{EU1}-MCS-Avi (D2979)。
- 反应溶液中的盐或试剂的终浓度有一定要求，如NaCl < 100mM，Glycerol < 5%，(NH₄)₂SO₄ < 50mM，Tris < 50mM，否则会抑制生物素连接酶的活性。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 体外生物素标记带有Avi标签的蛋白或多肽。

按照下表配制一个反应体系。轻轻吹打混匀后，30°C孵育30分钟，带有Avi标签的蛋白或多肽即可完成生物素标记。

Component	Volume	Final
Biotin Ligase Buffer A (10X)	5μl	1X
Biotin Ligase Buffer B (10X)	5μl	1X
BirA (100X)	0.5μl	1X
Protein or peptide	Xμl	40μM
ddH ₂ O	To 50μl	-

注1：本反应体系的体积可根据实际需要进行缩小或放大。很多情况下也可以设置为20μl的反应体系。

注2：蛋白(多肽)底物的反应终浓度通常不宜超过40μM。

注3：如果蛋白(多肽)底物的反应终浓度低于40μM，为保证生物素标记效果，需要适当延长反应时间，或增加BirA的用量，或对蛋白(多肽)底物进行浓缩以提高浓度。例如：蛋白(多肽)底物反应终浓度为20μM，可将反应时间延长至1小时；如果需要在30分钟使反应终浓度为20μM蛋白(多肽)底物几乎完全被生物素标记，则需要加入约2倍用量的BirA。

注4: 如果蛋白(多肽)底物必须低温以维持活性, 可将反应体系置于4°C, 适当延长反应时间, 并适当增加BirA的用量。

2. 生物素标记效率检测。

可以通过类似于Western blot的电泳和印迹检测实验进行检测, 即在电泳、转膜后洗涤、封闭, 随后与经过适当稀释的辣根过氧化物酶标记Streptavidin (A0303)孵育, 洗涤3-5次后, 使用ECL类试剂(如P0018A BeyoECL Star等)通过化学发光成像来检测生物素标记效率。详细的Western操作可以参考碧云天的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/western.htm>。

3. 生物素标记的蛋白或多肽纯化。

推荐使用碧云天的BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (P2151)分离纯化生物素标记的蛋白或多肽。

参考文献:

1. Millard G.Cull, Peter J.Schatz. Methods in Enzymology. 2000. 326:430-440.
2. Fairhead M, Howarth M. Methods Mol Biol. 2015. 1266:171-84.
3. Diamandis EP, Christopoulos TK. Clin Chem. 1991. 37(5):625-36.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P0630S	Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)	20-50次
P0630M	Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)	100-250次
P0630L	Avi标签蛋白生物素标记试剂盒(BirA法)	500-1250次
A0303	辣根过氧化物酶标记Streptavidin	0.2ml
A0312	碱性磷酸酯酶标记Streptavidin	0.2ml
P2151-200µl	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	200µl
P2151-1ml	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	1ml
P2151-5ml	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	5ml
P0101	生物素检测封闭试剂盒	200次
P0015	SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5X)	2ml
D2971-1µg	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA (生物素标记质粒)	1µg
D2971-100µg	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA (生物素标记质粒)	100µg
D2977-1µg	pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMOEU1-MCS-IRES-BirA(生物素标记质粒)	1µg
D2977-100µg	pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMOEU1-MCS-IRES-BirA(生物素标记质粒)	100µg
D2981-1µg	pCMV-N-3X Flag-SUMOEU1-MCS-Avi-IRES-BirA (生物素标记质粒)	1µg
D2981-100µg	pCMV-N-3X Flag-SUMOEU1-MCS-Avi-IRES-BirA (生物素标记质粒)	100µg
D3015-1µg	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA(生物素标记原核表达质粒)	1µg
D3015-100µg	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA(生物素标记原核表达质粒)	100µg
D3011-1µg	pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1µg
D3011-100µg	pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100µg
D3013-1µg	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1µg
D3013-100µg	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100µg
D3017-1µg	pET-Dual-His-SUMO3-Avi-MCS-BirA(生物素标记原核表达质粒)	1µg
D3017-100µg	pET-Dual-His-SUMO3-Avi-MCS-BirA(生物素标记原核表达质粒)	100µg
D3009-100µg	pET-N-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100µg
D3009-1µg	pET-N-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1µg
D3002-100µg	pET-N-His-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100µg
D3002-1µg	pET-N-His-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1µg
D3007-100µg	pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒)	100µg
D3007-1µg	pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒)	1µg
D3005-100µg	pET-His-MCS-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100µg
D3005-1µg	pET-His-MCS-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1µg
D2979-100µg	pCMV-N-3X Flag-SUMOEU1-MCS-Avi (Avi标签质粒)	100µg
D2979-1µg	pCMV-N-3X Flag-SUMOEU1-MCS-Avi (Avi标签质粒)	1µg
D2975-100µg	pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMOEU1-Neo (Avi标签质粒)	100µg
D2975-1µg	pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMOEU1-Neo (Avi标签质粒)	1µg
D2973-100µg	pCMV-N-3X Flag-Avi-Neo (Avi标签质粒)	100µg
D2973-1µg	pCMV-N-3X Flag-Avi-Neo (Avi标签质粒)	1µg

Version 2023.11.20