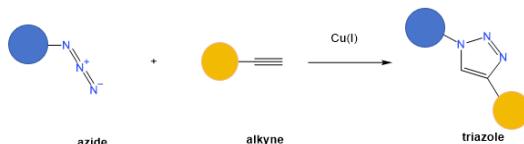


ChomiX®-ClickKit-BTTAA-Cu 点击化学试剂盒

产品原理



铜催化炔基-叠氮生物正交偶联反应

产品规格

产品货号	规格/次	批次
02030001A	100	N/A

产品特点

本产品是基于 BTTAA 配体的铜催化点击化学反应试剂盒，BTTAA 是新一代点击化学反应配体，水溶性强，催化效率高。

适用于均相水溶液的 CuAAC 反应，将炔基（或叠氮）标记的大分子与叠氮（或炔基）标记的报告基团（如生物素、荧光分子等）进行偶联，用于蛋白质富集或荧光成像等方面。

该试剂盒适用于在累计不低于 5 mL 的反应体积中催化偶联反应。

试剂组成	产品货号	包装	储 存 条 件
BTTAA/Cu-Mix, 25X	Component A	0.25 mL*1 管	-20°C
Reducing agent A	Component B	100 mg*5 管	-20°C, 避光

使用说明

- 使用该试剂盒之前，需要提前准备：炔基或叠氮标记的蛋白裂解液。其中，炔基分子或叠氮分子工作浓度需≤150 μM。如超过该浓度，则可能偶联效率低。
- 反应体系中禁止使用 EDTA 等金属螯合剂，建议使用 PBS、Tris、HEPES 等溶液。确保体系中 SDS 含量 ≤0.2%，或 NP-40 含量 ≤1%。

- BTTAA/Cu-Mix, 25X，使用时室温融化涡旋。建议分装后保存在-20°C，单个分装样品反复冻融不超过 3 次。
- Reducing agent A 以固体形式长期避光保存于-20°C，拿出使用时，待试剂恢复室温后，开盖称取 10 mg，直接溶解于 800 μL 去离子水中，即为 25X 储液。如称取其它质量，可等比例换算。该还原剂一般现用现配，剩余样品直接丢弃。
- 使用时，在含有炔基修饰分子或叠氮修饰分子的溶液中，按顺序加入 BTTAA/Cu-Mix (25X) 和 Reducing agent A (25X) 试剂（终浓度均为 1X），室温震荡反应。
- 当蛋白质上为炔基标记时，推荐本试剂盒与 TAMRA-azide (对应产品货号 02010006-5mg) 或 Biotin-azide (对应产品货号 02010018-25mg) 配合使用。
- 本试剂盒经过多次验证，操作简单稳定，可直接应用于实验。如需要使用阳性化学探针作为对照，推荐使用靶向蛋白质半胱氨酸残基的通用型共价标记炔基探针 IA-alkyne (货号 02010025) 作为标记和点击化学反应的阳性对照 Probe，按“使用步骤”所述方法进行处理。推荐 IA-alkyne 储液浓度为 1 mM (100X，溶于 DMSO 中)。

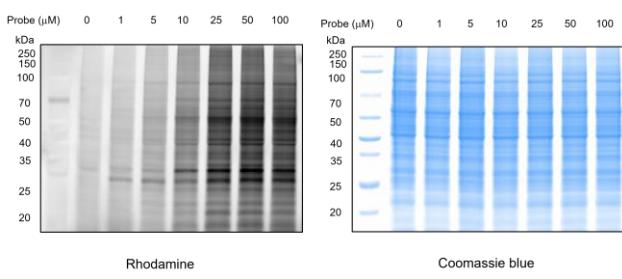
使用步骤

案例：将该产品应用于对 IA-alkyne 炔基探针标记的蛋白组进行点击化学反应偶联 TAMRA，并进行胶内荧光检测。

- 取 50 μL 待用裂解液（推荐使用 0.1 mg 蛋白质组作为起始量，也可以尝试使用其它蛋白量进行实验，等比例放大或缩小体积即可）于样品管中，加入 0.5 μL DMSO 或 IA-alkyne (1 mM)，终浓度为 10 μM。震荡轻轻混匀，快速离心，最终控制样品中 DMSO 含量一致且低于 2%。混合溶液在 25°C 避光振摇孵育 1 h.。
- 依次加入 1 μL TAMRA-azide (10 mM DMSO 储液，CAS #825651-66-9, 对应产品货号 02010006)，2 μL BTTAA/Cu-Mix (25X) 和 2 μL Reducing agent A 溶液 (25X)，每个试剂均充分混合，避光室温震荡反应 1 h (震荡混匀仪一般设置 1000-1500 rpm)。
- 加入 11 μL 5X SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液（含 β-巯基乙醇，终浓度为 1% (体积比)），95 °C 加热 5 min，冷却后离心，样品保存于-20°C待用。后续进行 SDS-PAGE 分离，推荐上样量 20-30 μL，电泳结束后，将胶取出。将胶

前沿含溴酚蓝和游离 TAMRA-azide 的部分截除, 置于盛有去离子水的干净盒子中 (胶在荧光成像之前可在去离子水中短暂保存, 如< 1 h, 时间过长易导致蛋白扩散。不可泡在含醋酸的凝胶固定液中, 否则影响成像效果。), 使用 ChemiDoc MP 凝胶成像仪进行胶内荧光成像分析 (TAMRA 的激发波长为 520-545 nm, 发射波长为 577-627 nm)。荧光检测后进行考马斯亮蓝染色。

说明: 也可以将 TAMRA-azide 替换为 Biotin-azide (10 mM DMSO 储液, CAS#875770-34-6, 产品货号 02010018), 利用 Streptavidin-HRP (推荐碧云天产品 A0305 或同类型产品) 进行 Western blot 检测生物素信号, 或与链霉亲和素磁珠 (产品货号 02030002) 联用, 对生物素标记蛋白进行富集。



炔基标记的蛋白质组通过点击化学反应偶联 TAMRA

- (1) 因运输颠簸, 固体产品请先离心再开盖使用;
- (2) 本产品为低温运输, 建议长期密封保存, 保质期 6 个月, 使用前请充分混匀, 使用过程中避免冻融;
- (3) 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。

相关产品推荐

产品货号	产品名称	用途
02010006	TAMRA-azide -5mg	与炔基偶联后进行 荧光检测
02010018	Biotin-azide -25mg	与炔基偶联后进行 Western blot 分析或 使用链霉亲和素磁 珠进行富集
02030002	ChomiX®-Magbeads 链霉亲和素磁珠	富集生物素化蛋白
02030011	ChomiX®-炔基标记蛋 白质 Extract-Click- Pulldown (链霉亲和 素磁珠) 试剂盒	适用于将带有炔基 标记的蛋白质从蛋白 质组中富集分离 并洗脱

注意事项