

酰化试剂（Bolton 和 Hunter 试剂）法

1. 原理 用酰化剂 3--(4-羟苯基)丙酸—N 琥珀酰胺酯（Bolton—Hunter 试剂）做连接试剂，将 ^{125}I 标记在羟苯基的 2, 5 位置上，再将琥珀酰胺酯水解，通过一个酰氨键将 3--(4—羟基—5— ^{125}I —苯基)接在蛋白或多肽的末端氨基上。
2. 方法 ^{125}I —Bolton—Hunter 试剂可用氯胺 T 法自行制备，出已有该试剂的苯溶液作为商品出售。使用时取一定量的标记酯 (μmol 蛋白用 3~5 μmol 标记酯)，用氮气吹除苯，投入欲标记蛋白 5~10 μg 及缓冲液 10~50 μl , pH8.0~8.5 为宜，在冰浴中反应 15~30min 后，加入多量氨基酸（如甘氨酸），使过量标记酯消耗掉以终止反应。

此法避免了蛋白质与氧化剂的接触，又避免了与放射性碘原子的直接接触，可防止碘源中有害物质对蛋白质的损伤，适用于标记缺乏酪氨酸的蛋白质或酪氨酸在活性中心，引入碘原子后会引入蛋白质的失活。其缺点是标记技术比较复杂，需要接触较多的放射性，经二步反应，碘标记率比较低。一般认为此法不宜标记短肽，而适于分子量大于 1 万的蛋白质。