

LinKine™生物素偶联试剂盒（尤其适合分子量为 6-20 KD 的样本）

Cat #: KTL0121

Size: 3×100 µg/1 mg

	生物素偶联试剂盒（尤其适合分子量为 6-20 KD 的样本）		
REF	货号：KTL0121	LOT	批号：见产品标签
	适用样本：蛋白质、多肽及其它含游离氨基的配体		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

原理

生物素是一种水溶性 B-维生素，分子量为 244 Da。它由四氢噻吩环和脲基环结合而成，戊酸取代基结合在四氢噻吩环碳原子上。生物素与抗生物素或链霉亲和素蛋白有高亲和力，因此生物素-抗生物素蛋白系统可作为多层次信号放大系统，广泛用于免疫检测中，具有高灵敏度和强特异性。

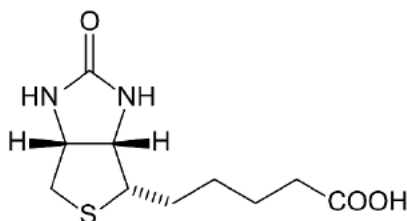


图 1：Biotin 结构式

LinKine™ 生物素偶联试剂盒可直接在蛋白质、多肽及其它含游离氨基的配体上标记 Biotin。试剂盒中 Activated Biotin solution 已预先活化，可直接用于偶联实验。

应用举例：偶联的直标一抗在免疫实验中无需二抗，免去繁琐的孵育和洗涤步骤，节省时间。

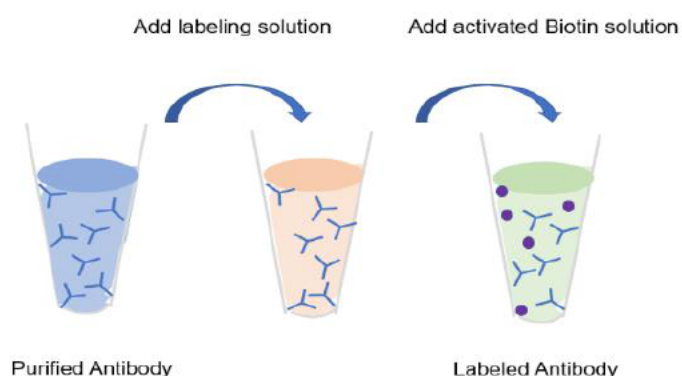


图 2：LinKine™ 生物素偶联试剂盒原理图

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	3×100 µg	1 mg	
Activated Biotin Solution	7.5 µL	25 µL	4°C, 避光保存
Biotin Labeling Solution	15 µL	50 µL	4°C保存
Purification Column (0.5 mL, 3 KD)	3	2	RT
说明书	1	1	RT

自备耗材

- 待标记样本
- 移液器和吸头
- 去离子水
- PBS (pH 7.4)

样本制备

待标记样本的初始浓度应高于 2 mg/mL, 建议蛋白浓度达到 2.5 mg/mL 以上效果最佳, 否则实验前需进行浓缩以提高浓度。待标记样本的组分 (或储存缓冲液) 应符合如下要求:

- (1) 不含有氨基成分, 否则会影响偶联效果。
- (2) 少量 BSA 不会影响偶联效果, 但建议使用 PBS 作为缓冲液。
- (3) 若样本中含有可能干扰标记的物质, 建议用 PBS 置换缓冲液, 具体方法为: 将样本加入超滤管中, 加入 200-150 µL PBS, 12,000 g、4°C、离心 10 min, 弃掉滤液; 再次补齐 PBS, 12,000 g、4°C、离心 10 min; 离心后取出超滤管内芯, 倒置于干净外管中, 4,000 g、4°C、离心 2 min, 收集置换缓冲液后的样本。

待标记样本的缓冲液应满足如下要求:

PH	6.5-8.0
无胺缓冲液	MES, PBS, HEPES
螯合剂 (e. g. EDTA)	✓可含有螯合剂
甘油 (Glycerol)	含量 < 50%
牛血清白蛋白 (BSA)	含量 < 0.1%
甘氨酸 (Glycine)	✗不能含有
含氨基成分	✗不能含有

实验步骤

1. 偶联物制备

不同规格建议的最适标记样本量和标记体系如下:

试剂盒规格	最适标记的样本量	最适的标记体系
1 mg	1 mg	500-750 µL
3×100 µg	3×100 µg	3×50-3×75 µL

注意: 以下操作步骤是以 3×100 µg 规格为例, 其它规格的试剂用量请进行等比调整。如果需要调整体积, 请保持样本量不变更改

标记体系中 **Biotin labeling solution**、**Activated Biotin solution** 和去离子水的体积。为保证偶联效果，建议样本的原始浓度应大于 **1 mg/mL**。对于其它规格，请参阅上表进行等比放大。

- (1) 向待标记抗体溶液中加入 15 μL **Biotin labeling solution**，用移液器温和混匀。
- (2) 吸取 7.5 μL **Activated Biotin solution** 至步骤(1)反应液中，加去离子水至 150 μL ，温和混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 、避光、静置 1 h。
- 注意：步骤(1)/(2)属于标记步骤。**
- (3) 向步骤(2)反应液中加入适量 PBS（总体积 500 μL ），温和混匀，将溶液移至纯化柱，4 $^{\circ}\text{C}$ 、12,000 g 下离心 10 min。
- (4) 弃去滤液，加适量 PBS（总体积 500 μL ）到纯化柱，4 $^{\circ}\text{C}$ 、12,000 g 离心 10 min。
- (5) 取出纯化柱倒置于干净试管中，4 $^{\circ}\text{C}$ 、4,000 g 离心 2 min，试管溶液即为偶联产物。

注意：步骤(3)/(4)/(5)属于纯化步骤。

2. 偶联物储存

偶联物 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下可稳定保存一个月。若需长期储存，请加入等体积甘油分装并于-20 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存，避免反复冻融。

常见问题

- 问 1：浓缩后抗体浓度仍低于 2 mg/mL？
- 答 1：如果浓缩后抗体浓度仍小于 2 mg/mL 可适当调整反应体积，但最终浓度应大于 1mg/mL。步骤(1)中 **Biotin labeling solution** 应为最终反应液 10%，步骤(2)中可不添加去离子水，**Activated Biotin solution** 保持不变，您也可以根据自己实验进行适当调整。
- 问 2：待标记样本分子量大小不同，如何选择合适的纯化柱？
- 答 2：本产品配备的超滤管适用于分子量为 6 KD-20 KD 的样本。若您需要偶联的样本分子量大于 20 KD，为保证偶联最佳效果，需另行配备大小合适的超滤管。
- 问 3：待标记分子分子量小于 100 KD？
- 答 3：对于分子量小于 100 KD 的分子，应使用相应纯化柱或分子筛柱。分子量介于 50-100 KD 之间，您可以使用试剂盒中的纯化柱，但是收率可能会低一些。如果分子量与 **Biotin** 相近，可在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下加入 30 μL 0.5 μM **NH₄Cl** 孵育 10 min。
- 问 4：对于不同分子量的样本，偶联效果是否有差异？
- 答 4：对于分子量小于 5 KD 的分子，偶联效果较差，您可以适当增加分子用量。

注意事项

1. 不同批次号、不同的厂家的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
2. 混合或复溶组分时，避免产生气泡。如有未使用完的试剂，请及时密封保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 。
3. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。
4. 保持好的实验习惯，穿戴好手套、实验服、口罩、防目镜等防护工具后再开始实验。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTL0211	LinKine™ FITC 偶联试剂盒（尤其适合分子量 6-20 KD 的样本）
KTL0521	LinKine™ AbFluor™ 488 偶联试剂盒（尤其适合分子量 6-20 KD 的样本）
KTL0541	LinKine™ AbFluor™ 594 偶联试剂盒（尤其适合分子量 6-20 KD 的样本）
KTL0531	LinKine™ AbFluor™ 555 偶联试剂盒（尤其适合分子量 6-20 KD 的样本）
KTL0561	LinKine™ AbFluor™ 647 偶联试剂盒（尤其适合分子量 6-20 KD 的样本）
KTL0581	LinKine™ AbFluor™ 680 偶联试剂盒（尤其适合分子量 6-20 KD 的样本）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

