

LinKine™ 辣根过氧化物酶偶联试剂盒

Cat #: KTL0100

Size: 3×100 µg/1 mg

	辣根过氧化物酶偶联试剂盒		
REF	货号: KTL0100	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°C, 避光保存 6 个月		

原理

辣根过氧化物酶 (HRP) 是一种 44,173.9 道尔顿糖蛋白, 带有 6 个赖氨酸残基, 可以与待标记分子结合。当与适当的底物一起孵育时, 会生成带有颜色, 荧光或发光衍生物的标记分子偶联体, 我们可以对其进行检测和定量分析。HRP 通常用于偶联物中, 以确定分子靶标的存在。HRP 具有单体特性, 能简便地生成有色物, 常用于 ELISA 和免疫组织化学等实验。LinKine™ HRP Labeling Kit 可直接对蛋白质、多肽及其它含游离氨基的配体上标记 HRP。试剂盒中 HRP 已预先活化, 可直接用于偶联实验。偶联产物在 4°C 下可稳定保存 1 个月。

应用举例: 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。

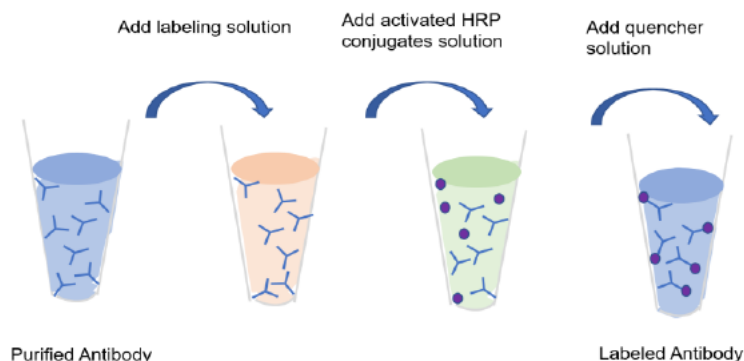


图 1: LinKine™ HRP Labeling Kit 偶联步骤

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	3×100 µg	1 mg	
Activated HRP Solution	22.5 µL	75 µL	4°C, 避光保存
HRP Labeling Solution	30 µL	100 µL	4°C, 保存
HRP Quencher Powder	3	1	4°C, 避光保存

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
- 超滤管或透析袋（按照实验需求）

样本制备

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)	✓
甘油 (Glycerol)	< 50%
牛血清白蛋白 (BSA)	< 0.1%
甘氨酸 (Glycine)	✗
明胶 (Gelatin)	< 0.1%
普罗克林 (Proclin)	✗
硼酸盐缓冲液	✓
含氨基成分	✗

注意，缓冲液中不能含有氨基成分，会影响偶联效果。叠氮化钠会破坏 HRP，偶联缓冲液不能含有普罗克林，少量 BSA 和明胶不会影响偶联效果，建议使用 PBS 作为缓冲液。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 μ L 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。

实验步骤

1. 偶联物制备

待标记样本与 HRP 最佳摩尔比为 1:1 至 1:4。我们建议以约 1:3 的比例进行偶联实验。您可以通过预实验确定最佳摩尔比。以标记抗体为例，从 1:1 到 1:4 推荐用量如下。

规格	HRP 量	抗体量 (抗体: HRP)			最佳标记体系
		1:1	1:3	1:4	
3×100 μ g/Kit	3×75 μ g	3×300 μ g	3×100 μ g	3×75 μ g	3×100 μ L
1 mg/Kit	750 μ g	3 mg	1 mg	750 μ g	1 mL

考虑到分子量 (160,000: 40,000)，对于 1 mg HRP，需要添加 1-4 mg 抗体。

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。

以 3×100 μ g /Kit 试剂盒为例，推荐摩尔比为 1:3。其它规格，试剂用量依据说明书进行等比调整。如果需要调整摩尔比，请保持 HRP 量不变，更改待标记样本和缓冲液用量。

(1) 向待标记样本中加入 30 μ L HRP labeling solution，用移液器温和混匀。

(2) 吸取 22.5 μ L Activated HRP solution 至步骤 (1) 反应液中，加去离子水至 300 μ L。温和混匀，室温 (20-25°C)，避光，静

置 2 h。

(3) 向 HRP quencher powder 中加入 1 mL 去离子水制作 100× HRP quencher 浓缩液。HRP quencher 浓缩液可置于室温保存，但需在 48 小时内用完。HRP quencher 浓缩液在使用前需稀释 100 倍制成 HRP quencher 工作液。

注意：为了防止气体在管内聚集，瞬间膨胀，导致安全隐患，请开盖配制 quencher 溶液；不同规格的试剂盒，配制 100×HRP quencher 浓缩液的去离子水用量保持不变（1 mL）。

(4) 向步骤（2）反应液中加入 45 μL HRP quencher 工作液，温和混匀，4℃，避光放置 2 h。偶联物可直接用于下游实验。

2. 偶联物储存

偶联物 4℃避光条件下可稳定保存一个月。若需长期储存，请分装并于-20℃下避光保存，避免反复冻融，可加入同体积甘油。

常见问题

问 1：由于样本浓度低，反应体积超过了最佳标记体系？

答 1：如果浓缩后样本浓度仍小于 1 mg/mL，可适当调整反应体积，但最终浓度应大于 0.5 mg/mL。HRP labeling solution 应为最终反应液 10%，步骤（2）中可不添加去离子水。Activated HRP solution 和 Quencher solution 需保持不变。

问 2：待标记样本与 HRP 摩尔比只能在 1:1 和 1:4 之间吗？

答 2：不同样本，最佳摩尔比不同。对于抗体，建议不要超过 1:4。其它样本，可以尝试不同比例。

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℃。
- 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
KTL0110	LinKine™ AP 偶联试剂盒
KTL0210	LinKine™ FITC 偶联试剂盒
KTL0520	LinKine™ AbFluor™ 488 偶联试剂盒
KTL0540	LinKine™ AbFluor™ 594 偶联试剂盒
KTL0120	LinKine™ 生物素偶联试剂盒
KTL0530	LinKine™ AbFluor™ 555 偶联试剂盒
KTL0560	LinKine™ AbFluor™ 647 偶联试剂盒
KTL0580	LinKine™ AbFluor™ 680 偶联试剂盒

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

