

产品说明书

产品名称：山羊抗小鼠抗体偶联试剂盒 (Antibody conjugation kit)

产品货号：BCS0003

产品规格：1 个反应

产品组分：

组分	浓度	体积	规格
L-Linker 标记山羊抗小鼠抗体	4.0 mg/mL	100 μ L	1 管, 棕色管, 棕色盖
S-Linker 标记液	5.0 nmol/ μ L	20 μ L	1 管, 棕色管, 棕色盖
2 \times S-Linker 标记缓冲液	2 \times	500 μ L	1 管, 透明管, 蓝色盖
1 \times 稀释缓冲液	1 \times	1mL	1 管, 透明管, 白色盖
10 \times 终止反应液	10 \times	100 μ L	1 管, 透明管, 红色盖
10K, 500 μ L 超滤管	/	/	1 个

储存条件：-20 $^{\circ}$ C 避光保存，有效期见外包装。

产品介绍

山羊抗小鼠抗体偶联试剂盒 (Antibody conjugation kit) 包含已被 L-Linker 标记的山羊抗小鼠抗体。使用本试剂盒中的 S-Linker 对目标蛋白进行标记后，即可直接与已被 L-Linker 标记的山羊抗小鼠抗体偶联，得到山羊抗小鼠抗体标记的蛋白。

整个过程步骤简洁，操作简便快捷。本试剂盒可用于标记 50~200 μ g 的蛋白质，所有试剂仅可进行 1 次标记。

蛋白质预处理

本试剂盒可以兼容低浓度的甘油（终浓度<10%）和 Tris（终浓度<20mM），但不兼容甘氨酸和稳定蛋白。如需对商品化蛋白质进行标记，建议联系供应商以确认蛋白质溶液的浓度，以及是否含有稳定剂等信息。

蛋白性稳定剂可能会影响最终标记效果，建议先进行纯化，除去蛋白性稳定剂后再进行标记。

如需除去蛋白质溶液中的非蛋白性稳定剂（如甘油、Tris、甘氨酸），可使用试剂盒中的超滤管和 1 \times 稀释缓冲液进行缓冲溶液置换。操作步骤如下：

- 1、将适量蛋白质溶液加至超滤管中，注意移液枪头不要触碰超滤膜。最大速率（14,000~16,000 \times g）离心 2 min，使液体全部流入收集管，去除收集管中的液体。
- 2、将等体积的 1 \times 稀释缓冲液加至超滤管中，注意移液枪头不要触碰超滤膜。最大速率（14,000~16,000 \times g）离心 2 min，使液体全部流入收集管，去除收集管中的液体。重复清洗 2~3 次。
- 3、添加适当体积的 1 \times 稀释缓冲液至超滤管中，使最终的蛋白质浓度不少于 1 mg/mL。小心吹吸缓冲液以重悬蛋白质，注意移液枪头不要触碰超滤膜。
- 4、将上述超滤管倒放至新的离心管中，12,000 \times g 离心 2 min，收集离心管中的液体，将其转移至干净的 EP 管中待用。

S-Linker 标记步骤

- 1、从 -20 $^{\circ}$ C 取出试剂盒中的所有组分，恢复至室温后，短暂离心，使液体集中在离心管底部。
- 2、依据蛋白质的初始浓度计算需加入反应体系的体积，依据下表将反应体系中的各组分进行混合（50 μ L 反应体系）：

组分	体积 (μ L)
S-Linker 标记液	2
2 \times S-Linker 标记缓冲液	25

本产品仅用于科研

www.nvcbiotech.com
Tel: 0512-67298826
Email: order@nvcbiotech.com

蛋白质 (100 μg)	X
ddH ₂ O	补足至 50

- 3、在室温避光摇晃反应 1 h 后, 向反应体系中加入 1/10 体积的 10× 终止缓冲液, 室温避光孵育 30 min, 以终止反应。
- 4、取出 1 个干净的超滤管, 加入 100 μL 1× 稀释缓冲液, 平衡 5min, 最大速率 (14,000~16,000×g) 离心 2 min, 使液体全部流入收集管, 去除收集管中的液体。
- 5、将上步的反应液全部转移至超滤管中, 最大速率 (14,000~16,000×g) 离心 2 min, 使液体全部流入收集管, 去除收集管中的液体。
- 6、向上步的超滤管中加入 100 μL 1× 稀释缓冲液, 小心重悬蛋白质后, 最大速率 (14,000~16,000×g) 离心 2 min, 使液体全部流入收集管, 去除收集管中的液体。重复洗涤 2~3 次, 直至残余的未结合 Linker 完全洗脱。
- 7、向上步的超滤管中加入适量的 1× 稀释缓冲液, 使最终的蛋白质浓度不少于 1 mg/mL。小心吹吸缓冲液以重悬蛋白质/抗体, 注意移液枪头不要触碰超滤膜。
- 8、将上步的超滤管倒置在新的收集管中, 12,000×g 离心 2 min, 收集离心管中的液体, 将其转移至干净的 EP 管中。

山羊抗小鼠抗体-蛋白质偶联步骤

- 1、将 S-Linker 标记的蛋白质与已被 L-Linker 标记的山羊抗小鼠抗体以 2:1~4:1 的摩尔比混合, 在室温避光摇晃反应 4 h。(必要时也可在 4°C 反应过夜, 以提高偶联效果。)
- 2、偶联后的蛋白质/抗体可直接使用, 如需长期保存, 则需另加入适量的稳定剂后, 存放于 -20°C。

注意事项:

- ①10K 超滤膜的截留分子量约为 10kDa, 因此适用于对分子量大于 10kDa 的生物分子进行脱盐纯化, 不能用于对小于此分子量的生物分子进行脱盐纯化。
- ②蛋白质在标记反应体系中的终浓度高于 1 mg/mL 时, 标记效率较高。因此如进行标记前, 蛋白质的初始浓度较低时, 也可使用超滤管进行浓缩, 使其初始浓度高于 2 mg/mL。
- ③当反应体系的 pH 为弱碱性时, 标记效率较高。因此进行标记前, 蛋白质溶液的 pH 呈酸性或强碱性时, 可先使用试剂盒中的超滤管和 1× 稀释缓冲液对蛋白质溶液进行置换。
- ④试剂盒中的超滤管可一次性容纳的最大样本体积为 500 μL, 可浓缩的最小体积为 20 μL, 膜上的滞留体积小于 5 μL。使用时应避免移液枪头触碰超滤膜, 以免撕裂或穿刺超滤膜, 导致蛋白质损失。