

ZymeBright™ 位点特异性DBCO/BCN修饰寡聚核苷酸抗体偶联试剂盒（2x 叠氮化物）

Catalog Number: PK30100



产品信息

ZymeBright™ 位点特异性DBCO/BCN修饰寡聚核苷酸抗体偶联试剂盒（2x 叠氮化物）是一款新型、操作简便且高效的快速偶联试剂盒，可实现抗体FC端的定点偶联。该设计从根源上避免了传统随机偶联技术导致的抗体活性降低、批间差异等显著缺点。该试剂盒可广泛应用于抗体偶联药物（ADC）、抗体-寡核苷酸偶联物（AOC）、流式细胞分析、免疫荧光、免疫印迹等多种常规实验场景，兼顾实验准确性与操作便捷性。

该试剂盒适用于Rabbit IgG, Rat IgG1 & IgG2a, Human IgG1-4 和Mouse IgG1 & IgG3 等作为骨架的抗体或融合蛋白。

核心优势：

- 1. 定点偶联，信号稳定：偶联物与抗体FC端共价结合，实现精准定点偶联，既保证了荧光信号强度的均一性，又有效降低了非特异性信号干扰，提升实验重复性。
- 2. 高活性保留，特异性优良：偶联位点远离抗体Fab端活性中心，仅特异性共价结合于FC端，不影响抗体Fab端对靶抗原的识别与结合能力，确保抗体原有生物学活性不受损伤。
- 3. 偶联效率高，无需纯化：试剂盒偶联效率优异，偶联过程中抗体无损耗，偶联后有效偶联抗体得率高，可直接用于流式细胞分析、免疫荧光、免疫印迹等多种常规实验，无需额外纯化步骤，大幅节省实验时间。

产品组分

货号	名称	组分规格
Component A (PK3007X-A)	Antibody Modifier Reagent (Vial A)	5 uL
Component B (PK30100-B)	Lyophilized Linker (2x Azide) (Vial B)	100 ug
Component C (PK3007X-C)	Lyophilized PTGase (Vial C)	3 mg
Component D (PK3007X-D)	Conjugation Buffer (Vial D)	200 uL
Component E (PK3007X-E)	Quenching Reagent (Vial E)	5 mg
Component F (PK3007X-F)	0.6 mL Low Adhesion Tube	0.6 mL*2

Labeling Scale: 100 ug unconjugated antibody

包装规格

保存条件

使用方法

100 ug

该试剂盒在-20℃条件下可保存至少一年。开封后应置于2-8℃环境中保存，避免光照和潮湿以保持试剂稳定性。试剂首次启用后必须在一周内使用完毕。

1. 偶联操作流程：

操作前请将所有试剂（除Modifier Vial A和PTGase Vial C外）平衡至室温（15-25℃），Modifier Vial A和PTGase Vial C试剂现用现取，全程注意无菌操作，避免试剂污染。

1.1 Modifier 抗体的预处理

准备抗体，置换PBS缓冲液，浓度在1 mg/mL。取 2 uL 的Modifier Vial A加入到100 uL（浓度为1 mg/mL）抗体溶液并置于低吸附 0.6 mL 微量反应管中，轻柔涡旋混匀10-15 s，置于37℃、振幅3 mm、800 rpm恒温振荡器中孵育30 min。如果恒温振荡器的振幅在2 mm，增加转速至1000 rpm。

注意：此步反应完成后请尽快进行下一步操作，不宜长时间放置（建议≤30 min），避免抗体活性受损。

1.2 Lyophilized Linker Vial B的溶解

使用0.1 mL的无菌PBS溶液溶解Vial B管，轻柔混合均匀，确保Vial B完全溶解，无沉淀或絮状物。

1.3 PTGase Vial C的溶解

使用0.6 mL的无菌PBS溶液溶解PTGase Vial C，涡旋混匀10-15秒，确保其完全溶解。

注意：PTGase Vial C需现用现溶，溶解后立即使用，放置时间过长（超过1小时）会导致酶活性衰减，影响偶联效率。

1.4 偶联反应

向上述反应管^(1.1)中依次加入8 uL Vial B溶液^(1.2)，20 uL PTGase Vial C溶液^(1.3)和 47 uL Conjugation Buffer Vial D。所有试剂加入后，涡旋混匀20秒，置于37℃、振幅3 mm、800 rpm恒温振荡器中避光孵育18-24小时。如果恒温振荡器的振幅在2 mm，增加转速至1000 rpm。

1.5 终止反应

偶联反应完成后，使用 100 uL PBS溶液溶解Quenching Reagent Vial E，涡旋混匀10-15 秒，待完全溶解后向上述反应管^(1.4)中加入 83 uL Quenching Reagent Vial E，轻柔混匀，避光室温孵育30 min，终止偶联反应。

2. 点击化学反应（Click Chemistry）：

2.1 抗体-Linker置换缓冲液

终止反应完成后，请使用超滤管10-30 kDa MWCO除上述反应液中的游离的叠氮，使用无菌PBS + 2 mM EDTA的缓冲液平衡超滤管至2个柱体积，将上述管^(1.5)抗体反应液进行超滤置换缓冲液（无菌PBS + 2 mM EDTA的缓冲液）。

置换缓冲液的抗体使用超微量分光光度计定量，计算抗体浓度。纯化后的抗体可直接用于偶联，可以2-8℃短期保

注意事项

缓冲液兼容性

- 存，长期保存需-20℃。
- 2.2 溶解Oligonucleotide样品
- 将DBCO修饰的Oligonucleotide溶解于无DNA/RNA酶的超纯水中，可以2-8℃短期保存，长期保存需-20℃。
- 2.3 点击化学反应
- 按照抗体与DBCO-Oligonucleotide摩尔比1:3-1:6，将DBCO-Oligonucleotide溶液缓慢加入抗体-Linker溶液中。如果需要，可以用反应缓冲液无菌PBS + 2 mM EDTA补足至合适体积。用移液枪轻轻吹打或轻轻涡旋,避免产生气泡。室温（25℃）反应22 h。
- 2.4 CleanAb Kit去除游离寡核苷酸
- 使用Proteintech的CleanAb Kits（Cat No. CK001）去除未结合的游离寡核苷酸，具体步骤详见CleanAb Kits（Cat No. CK001）说明书。
- 若短期使用建议在PBS中-20℃保存，如果长期使用及后续实验不受干扰，可在30%甘油和少量BSA条件下保存。
- 2.5 寡核苷酸偶联抗体的分析
- 寡核苷酸偶联抗体的效果可通过凝胶电泳检验，在凝胶电泳结束后用考马斯亮蓝染色剂染色并脱色，在TAE或者TBE缓冲液中进行凝胶的EB染色，孵育30分钟。分析寡核苷酸与抗体偶联效果，及游离寡核苷酸去除情况。寡核苷酸偶联抗体的效果可通过SEC-uHPLC分析，并设立标准品对比。该方法是一种基于分子大小分离的HPLC技术。它利用具有不同孔径的固定相（填料）对样品中的蛋白质进行分离，使得大分子先于小分子通过色谱柱，从而实现蛋白质的分离和纯度分析。
- 寡核苷酸偶联抗体的效果可通过流式细胞仪器分析，可以选用Proteintech抗寡聚核苷酸抗体作为二抗进行检测，DNA Recombinant monoclonal antibody（Cat No. APC-85854和CL488-85854），dsRNA Recombinant monoclonal antibody（CL488-85780-2）。

1. 该试剂盒不仅可以作为DBCO/BCN修饰寡核苷酸偶联，也可以为客户定制其他甲基四嗪Linker与TCO修饰的偶联物和巯基Linker与MAL修饰物的偶联物。
2. 试剂平衡：进行偶联操作前，所有试剂（除Modifier Vial A和PTGase Vial C之外）需提前15-30分钟平衡至室温，避免低温试剂影响反应效率。
3. 自备试剂：实验需自备10 mM、pH7.4的PBS缓冲液，建议提前灭菌处理，确保无菌无杂质。
4. 沉淀说明：抗体偶联完成后，若偶联物出现少量沉淀，属于正常特例情况，不影响后续实验结果，可直接使用。
5. 无菌操作：全程严格遵循无菌操作规范，避免试剂污染，否则会导致偶联失败或抗体活性受损。
6. 避光操作：若偶联物为荧光分子，对光敏感，偶联反应及抗体储存过程中需全程避光，避免荧光淬灭。
7. 试剂保存：未开封试剂盒需按说明书要求储存（通常为-20℃避光保存），开封后剩余试剂需密封，按对应条件储存，尽快使用完毕。开封后应置于2-8℃环境中保存，避免光照和潮湿以保持试剂稳定性。试剂首次启用后必须在一周内使用完毕。
8. 反应体系中甘油的含量应<10%。
9. 最佳的恒温振荡器是恒温振荡金属浴。

试剂组分 & 条件	
纯化抗体	是
腹水、血清、杂交瘤或组织培养基中的抗体	否
抗体浓度	0.5-2 mg/mL
pH	6.5-8.0
无胺缓冲液（如MES, MOPS, HEPES, PBS）	是
非缓冲盐（如氯化钠）	是
BSA	是
叠氮化钠	是
螯合剂（如EDTA）	是
甘油	<10%
糖类	是
明胶	未知
Tris	是
甘氨酸	否
硫柳汞	是
碘酚	是
Proclin	是
硼酸盐缓冲液	是
一级胺（如赖氨酸、肽或乙醇胺）	否
重金属离子（Zn ²⁺ 、Cu ²⁺ 、Mn ²⁺ 或Fe ³⁺ ）	否

Validation Data

