

Antibody Coupling Kit B

(适用于甲苯磺酰基磁珠与抗体的偶联)

修订日期：2021年1月 (Rev. 001)

仅供科研使用，不可用于治疗 and 诊断用途。

缓冲液套装组分与储存条件

储存条件 缓冲液套装中的各组分均应存储于2 – 8 °C下。

套装组分 缓冲液套装中各组分见下表：

组分名称	体积
Buffer CB	10 mL
Buffer ST	5 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer SB	5 mL
Buffer KB	25 mL

适用范围 仅供科研使用。不可用于人和动物的治疗与诊断。

产品描述

关于该套装

概述

纳微的Antibody Coupling Kit B缓冲液套装用于将抗体共价偶联到甲苯磺酰基磁珠表面。该套装同样可用于将其他蛋白类生物配基（酶、大分子抗原、凝集素等）与甲苯磺酰基磁珠进行共价偶联。偶联后的磁珠可用于多种应用场景，包括但不限于免疫检测、免疫沉淀与共沉淀、细胞免疫分离等。

该套装既适用于纳微的MagneStar® MP-Tosyl系列磁珠，也可与其他品牌的甲苯磺酰基磁珠配合使用。

该套装的优点

- 此套装的偶联工艺稳定性高，重复性好，所制备的磁珠试剂具有极小的批间差异。
 - 优化的偶联与封闭条件可有效降低磁珠表面的非特异性吸附，提高检测灵敏度。
 - 优化的清洗条件能够去除磁珠表面弱吸附的抗体，避免储存过程中磁珠表面配基的脱落。
-

使用方法

影响偶联反应的因素

抗体（或其他配基）的影响

选择合适的抗体是保证后续免疫实验成功最为关键的因素。

注意！ 不是所有的抗体对所有的免疫实验都适用。

另外，当抗体偶联到磁珠表面后，抗体的性质（亲合力、稳定性、动力学等）都会发生变化，必须根据具体的实验要求对偶联后的试剂性能进行验证。

磁珠的表面性质

- 甲苯磺酰基磁珠表面比较疏水，在进行偶联时，首先通过疏水作用力将抗体或其他蛋白配基吸附到表面，然后抗体上的氨基再与甲苯磺酰基逐渐反应形成共价键。
 - 由于大部分抗体的Fc区段疏水性高于Fab区段，因此抗体在甲苯磺酰基表面吸附时，Fc区段倾向于先结合在磁珠上，有利于抗体在磁珠表面的取向。
 - 甲苯磺酰基本身在水中稳定，长期存放不会水解，在偶联抗体后必须用蛋白类封闭剂或者其他带有氨基的小分子（Trizma、甘氨酸、乙醇胺等）将剩余的基团反应完全。
-

抗体储存的添加剂

- 商业化的抗体中往往会带有添加剂以提高其存储稳定性。
 - 一般而言，防腐剂类（叠氮化钠、Proclin®、硫柳汞）不会影响抗体与磁珠的偶联，而高比例的甘油最好事先去除，因为过高的溶剂粘度会影响偶联效率。
 - 如果抗体储存液中有BSA之类蛋白稳定剂，则必须事先去除，避免其与抗体竞争磁珠表面的反应位点。
-

影响偶联反应的因素（续）

抗体的用量

- 一般初始的推荐用量为每mg磁珠加入10 - 30 μg 抗体。最佳用量需要根据不同的抗体及后续实验要求进行优化。
 - 增加抗体的用量有助于提高磁珠表面的偶联量，但同时也会降低偶联效率，增加成本。
 - 若抗体用量过低，则偶联后的磁珠整体反应性不足，同时暴露的表面有可能导致非特异性吸附。
 - 若抗体用量过高，除偶联效率下降外，还可能在表面产生非共价的弱吸附，有可能在储存过程中从表面脱落。
-

抗体性质的差异

不同的抗体自身性质的差别很大，这种差别包括等电点、亲疏水性（溶解度）、对抗原的亲合力、结合动力学常数、存储稳定性等。

这些性质的差异会影响偶联效率、偶联后的抗体反应性以及存储稳定性等。

抗体的聚集与脱落

某些抗体在存储过程中有可能产生部分聚集。聚集的抗体偶联到磁珠表面后，在存储过程中可能会出现脱落。

为避免出现这种问题，建议用0.2 μm 的PES材质的滤膜过滤后使用。

偶联流程

概述

以下流程适用于将抗体（或其他蛋白类配基）偶联到甲苯磺酰基磁珠表面。若使用纳微的MagneStar® MP-Tosyl系列磁珠，则整个套装可以用于总共100 mg磁珠的偶联反应。若使用其他品牌的甲苯磺酰基磁珠，磁珠用量需要进行相应的调整。

其他需另外准备的材料

- MagneStar® MP-Tosyl或者其他品牌的甲苯磺酰基磁珠
 - 需确保抗体中不含有蛋白类稳定剂，抗体的浓度一般不低于1 mg/mL
 - 配合反应容器使用的磁力架
 - 旋转混匀仪（注意不要带有磁性）
 - 恒温培养箱（或恒温层析柜）
 - 去离子水
-

偶联反应的规模

下列偶联反应条件对应的磁珠用量为100 mg。其他反应规模可等比例调节各步骤中缓冲液及试剂用量。

偶联反应前的准备

- 将整个缓冲液套装从冷藏室取出，在室温下平衡30分钟以上。
- 将磁珠分散液从冷藏室取出，在室温下于混匀仪上混匀30分钟以上。
- 将恒温培养箱（或恒温层析柜）温度设定为37 °C，并将混匀仪置于其中。

注意！ 37 °C是大部分抗体偶联的适宜温度。若偶联非抗体类的蛋白配基时，需要对偶联温度进行探索和优化。

偶联流程（续）

偶联反应过程

1. 移取含磁珠总量为0.1 g的磁珠分散液，置于磁力架上磁吸分离，移去上清液。
 2. 向磁珠中加入5 mL去离子水，涡旋混匀20秒，超声1分钟后置于磁力架上磁吸分离，移去上清液。
 3. 向磁珠中加入Buffer CB 5 mL，涡旋混匀20秒，超声1分钟后置于磁力架上磁吸分离，移去上清液。
 4. 向磁珠中加入Buffer CB 2 mL，涡旋混匀20秒，超声1分钟。
 5. 用Buffer CB将抗体溶液稀释到总体积为1.3 mL，加入上述磁珠分散液并充分混匀。
 6. 向上述混合物中再加入Buffer ST 1.7 mL，涡旋混匀，然后置于培养箱或层析柜内的混匀仪上，在37 °C下混匀孵育4小时（或37 °C过夜，温度视情况而定）。
 7. 磁吸分离磁珠，向其中加入Buffer WB 5 mL，涡旋混匀20秒，超声1分钟后置于磁力架上磁吸分离，移去上清液。
 8. 向磁珠中加入Buffer SB 5 mL，涡旋混匀20秒，超声1分钟后置于培养箱或层析柜内的混匀仪上，在37 °C下混匀孵育1小时。
 9. 磁吸分离磁珠，向其中加入Buffer WB 5 mL，涡旋混匀20秒，超声1分钟后置于磁力架上磁吸分离，移去上清液。
 10. 向磁珠中加入Buffer KB 5 mL，涡旋混匀20秒，超声1分钟后置于培养箱或层析柜内的混匀仪上，在37 °C下混匀孵育16 – 18小时（过夜）。
 11. 磁吸分离磁珠，向其中加入Buffer KB 5 mL，涡旋混匀20秒，超声1分钟后置于磁力架上磁吸分离，移去上清液。重复该清洗步骤，总共3次。
 12. 向完成清洗后的磁珠内加入Buffer KB 5 mL，置于2 – 8 °C储存。
-

偶联流程（续）

长期储存条件

在Buffer WB中保存的已包被抗体（蛋白）的磁珠在2 - 8 °C条件下可保存6个月。如需更长的存储有效期，可以向储存缓冲液中加入Proclin®系列抑菌剂，总浓度在0.05 - 0.1% w/v。

注意事项

偶联抗体后的磁珠有效期必须通过实验验证来确定。并非所有的抗体都适合长期储存于冷藏条件下。

在预期的有效期及对应的储存条件下，应定期取出小量试样，在实际应用场景中进行性能测试。

适用的磁珠产品

相关产品

纳微的下列甲苯磺酰基磁珠产品均可配合该缓冲液套装使用：

目录代码	产品名称	标称粒径	固含量	标准包装
MPHCT-150	MagneStar MP1-Tosyl	1.5 μm	2.0%	5/25/ 100 mL
MPHCT-300	MagneStar MP3-Tosyl	3.0 μm	2.0%	
MPHCT-550	MagneStar MP5-Tosyl	5.5 μm	2.0%	

苏州纳微科技股份有限公司

全球客户服务热线：400-828-1622 电话：0512-6295 6000(805) 传真：0512-6295 6018

地址：苏州市工业园区百川街2号 网址：www.nanomicrotech.com 邮箱：lifesci@nanomicrotech.com

