

## 产品说明书

产品名称：寡核苷酸-抗体定点标记试剂盒 (Site-Specific Oligonucleotide Antibody Labeling Kit)

产品货号：BCS0002

产品规格：1 个反应

产品组分：

组分	浓度	体积	规格
P-Linker 标记液 (抗体)	5.0 nmol/ $\mu$ L	20 $\mu$ L	1 管, 棕色管, 棕色盖
N-Linker 标记液 (核酸)	5.0 nmol/ $\mu$ L	20 $\mu$ L	1 管, 棕色管, 棕色盖
2 $\times$ 抗体标记缓冲液	2 $\times$	500 $\mu$ L	1 管, 透明管, 蓝色盖
2 $\times$ 核酸标记缓冲液	2 $\times$	500 $\mu$ L	1 管, 透明管, 蓝色盖
2 $\times$ 抗体预处理缓冲液	20mM	500 $\mu$ L	1 管, 透明管, 白色盖
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 $\mu$ L	1 管, 透明管, 红色盖
10K, 500 $\mu$ 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

寡核苷酸-抗体定点标记试剂盒 (Site-Specific Oligonucleotide Antibody Labeling Kit) 是一种用于快速偶联寡核苷酸与抗体的即用型生物偶联试剂盒。

一方面，目标抗体首先被 P-Linker 标记。

另一方面，寡核苷酸在进行合成时，目标位点的碱基需要首先被氨基化修饰（此步骤由寡核苷酸合成公司完成）。随后，N-Linker 可以被标记在被氨基化的碱基上。

最后，被 P-Linker 标记的目标抗体可与被 N-Linker 标记的寡核苷酸混合在一起，P-Linker 与 N-Linker 发生特异性结合，使目标抗体与寡核苷酸特异性偶联。

整个过程步骤简洁，操作简便快捷。本试剂盒可用于标记 50~500 $\mu$ g 的抗体，所有试剂仅可进行 1 次标记。

### 抗体预处理

蛋白性稳定剂可能会影响本试剂对抗体最终标记效果，建议先进行纯化，除去蛋白性稳定剂后再进行抗体标记。

如需除去抗体溶液中的非蛋白性稳定剂，或抗体浓度过低（低于 2 mg/mL）需要进行抗体浓缩时，可首先使用试剂盒中的超滤管和 1 $\times$  稀释缓冲液进行抗体溶液置换。操作步骤如下：

- 1、将适量抗体溶液加至超滤管中，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，使最终的抗体浓度不少于 1 mg/mL。小心吹吸缓冲液以重悬抗体，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。

在完成抗体浓缩或溶液置换后，需要对抗体进行标记前的预处理，具体的步骤如下：

- 1、将抗体溶液与 2 $\times$  抗体预处理缓冲液以 1:1 的体积比混合均匀。

本产品仅用于科研

[www.nvcbiotech.com](http://www.nvcbiotech.com)  
Tel: 0512-67298826  
Email: [order@nvcbiotech.com](mailto:order@nvcbiotech.com)

2、在 37°C 孵育 30~60 min。

#### 抗体标记步骤

- 1、从-20°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、依据抗体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  $\mu$ L 反应体系)：

组分	体积 ( $\mu$ L)
P-Linker 标记液 (抗体)	2
2 $\times$ 抗体标记缓冲液	25
抗体 (100 $\mu$ g)	X
ddH <sub>2</sub> 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 $\times$  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  $\mu$ L 1 $\times$  稀释缓冲液，平衡 5min，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。
- 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 $\times$ g) 离心 2 min，使液体全部流入收集管，去除收集管中的液体。
- 6、向上步的超滤管中加入 100  $\mu$ L 1 $\times$  稀释缓冲液，小心重悬抗体后，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 $\times$  稀释缓冲液，使最终的抗体浓度不少于 1 mg/mL。小心吹吸缓冲液以重悬抗体，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 $\times$ 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。

#### 寡核苷酸标记步骤

- 1、本试剂盒中的寡核苷酸标记试剂对甘油、Tris、甘氨酸的兼容性较差，建议在溶解或稀释目标寡核苷酸时，使用不含这些组分的缓冲液。
- 2、依据寡核苷酸的初始浓度计算需加入反应体系的体积，确保反应体系中寡核苷酸的终浓度不低于 10mM，依据下表将反应体系中的各组分进行混合 (50  $\mu$ L 反应体系)：

组分	体积 ( $\mu$ L)
N-Linker 标记液 (核酸)	4
2 $\times$ 核酸标记缓冲液	25
寡核苷酸 (终浓度不小于 10mM)	X
ddH <sub>2</sub> 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 $\times$  终止缓冲液，室温避光孵育 30 min，以终止反应。

#### 寡核苷酸-抗体偶联步骤

- 1、将 P-Linker 标记后的抗体 (浓度不少于 1 mg/mL) 与 N-Linker 标记的寡核苷酸以 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、取出 1 个干净的超滤管，加入 100  $\mu$ L 1 $\times$  稀释缓冲液，平衡 5min，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。
- 3、将上步的反应液全部转移至超滤管中，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。

- 4、 向上步的超滤管中加入 100  $\mu\text{L}$  1 $\times$ 稀释缓冲液，小心重悬抗体后，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。重复洗涤 2~3 次，直至残余的未结合 Linker 完全洗脱。
- 5、 向上步的超滤管中加入适量的 1 $\times$  稀释缓冲液。小心吹吸缓冲液以重悬抗体，注意移液枪头不要触碰超滤膜。
- 6、 将上步的超滤管倒置在新的收集管中，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。
- 7、 偶联后的抗体可直接使用，如需长期保存，则需另加入适量的稳定剂后，存放于 $-20^{\circ}\text{C}$ 。

**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抗体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，抗体的初始浓度较低时，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，抗体溶液的 pH 呈酸性或强碱性时，可先使用试剂盒中的超滤管和 1 $\times$ 稀释缓冲液对抗体溶液进行置换。
- ④试剂盒中的超滤管可一次性容纳的最大样本体积为 500  $\mu\text{L}$ ，可浓缩的最小体积为 20  $\mu\text{L}$ ，膜上的滞留体积小于 5  $\mu\text{L}$ 。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，导致抗体损失。