



产品使用说明书

**Rhinogen<sup>®</sup> TransCOUPER<sup>™</sup>**

**叠氮活化试剂盒**

货号：QPF-104



## 目 录

目 录 .....	1
产品信息 .....	2
试剂包装 .....	2
产品来源 .....	2
单位定义 .....	2
保藏条件 .....	2
产品综述 .....	3
背景 .....	3
概述 .....	3
应用 .....	3
特性 .....	3
操作方法 .....	4
所需自备材料 .....	4
原理 .....	4
操作步骤 .....	4
注意事项 .....	6
相关产品 .....	7
联系我们 .....	8

## 产品信息

**试剂包装** Rhinogen® TransCOUPER™ 叠氮活化试剂盒包装规格如下：

试剂盒货号	试剂盒组分		
	货号	名称	规格
QPF-104-A	QPF-102W1	Immobilized EndoS2, Microspin	1 支
	QPF-102X	Glycosyltransferase	1 瓶
	QPF-102Y	Protein A 纯化柱	1 支
	QPF-102Z5	Glycoform Azoture hIgG1/4	100µg
QPF-104-B	QPF-102W1	Immobilized EndoS2, Microspin	1 支
	QPF-102X	Glycosyltransferase	1 瓶
	QPF-102Y	Protein A 纯化柱	1 支
	QPF-102Z6	Glycoform Azoture hIgG2	100µg

**产品来源** 试剂盒中的酶均在大肠杆菌中表达，并带有 His 标签。

**单位定义** 通过 LC-MS 测定，Rhinogen® TransCOUPER™ 叠氮活化试剂盒对 100 µg 人 IgG1 的转糖基化率 ≥ 95%。

**保藏条件** 冷藏运输，产品到货后 Immobilized EndoS2, Microspin 和 Protein A 纯化柱放置于 2~8°C 储存，Glycosyltransferase 和 Glycoform Azoture hIgG1/4 或 hIgG2 放置于 -25~-5°C 储存。请勿冷冻 Immobilized EndoS2, Microspin 和 Protein A 纯化柱。

## 产品综述

---

**背景** 抗体糖基化重塑是一种改变抗体分子上糖基化模式的技术。它的优势包括增强抗体的稳定性、改善其药代动力学特性、增强其抗体依赖性细胞毒性（ADCC）活性等。这项技术在药物研发和治疗领域有广泛的应用，包括治疗癌症、自身免疫病和感染性疾病等。

人 IgG 糖链重塑和糖基偶联是指对人类免疫球蛋白 G（IgG）分子进行结构或性质的改变，或在其特定位置引入化学团或官能团，以实现特定的功能或应用。这种重塑或偶联的意义在于扩展人 IgG 的应用领域和功能，提高其治疗效果或生物活性。通过改变 IgG 的结构或性质，可以调控药物传递性能、免疫活性、稳定性等，从而实现更好的治疗效果或应用效果。

---

**概述** Rhinogen® TransCOUPER™ 叠氮活化试剂盒可在人 IgG Fc 端的 N-糖基化位点上实现高效的特异性位点连接。使用 Rhinogen® TransCOUPER™ 叠氮活化试剂盒进行叠氮活化后，抗体可以用任意选择的炔烃反应型点击试剂进行标记，标记度（DOL）为每个抗体 4 个标记（DOL = 4）。本试剂盒中含有足够的材料以叠氮活化 100 µg 人 IgG。

---

**应用** 可用于对人 IgG 进行特定位点的叠氮活化。

---

- 特性**
- ✓ 便于对人 IgG 进行特定位点的定制共轭，标记度 (DOL) 始终为 4；
  - ✓ 更高的 DOL 可提高灵敏度，从而更好地探测低空目标；
  - ✓ Fc 特异性标记可保留抗原结合能力；
  - ✓ 可在几小时内生成叠氮激活人 IgG。
-

## 操作方法

- 所需自备材料**
- ✓ 在 PBS 中的抗体，pH 7.4，不含载体蛋白。100  $\mu$ g 人 IgG，最大体积为 100 $\mu$ l；
  - ✓ 1.5-2 ml 大小的离心管；
  - ✓ 磷酸盐缓冲盐水 (PBS): 10 mM Sodium Phosphate, 150 mM Sodium Chloride, pH 7.4；
  - ✓ ddH<sub>2</sub>O；
  - ✓ 洗脱缓冲液：0.1M 甘氨酸，pH 2.5；
  - ✓ 中和缓冲液：1M Tris，pH 8.0；
  - ✓ 用于微型离心管的离心机；
  - ✓ 旋转混合器或类似设备。

## 原理



图 3. Rhinogen® TransCOUPER™ 叠氮活化试剂盒原理图。

## 操作步骤

1. 去糖基化：水解抗体 Fc 端的 N-聚糖：
  - 1.1 将 Immobilized EndoS2, Microspin 柱子底部的塑料盖掰开（保留盖子），然后稍微打开盖子。将色谱柱放入离心管, 200g 转速下离心 1 分钟，除去储存液；
  - 1.2 将色谱柱放入离心管中，加入 300 $\mu$ l PBS 缓冲液。200g 离心 1 分钟，弃去废液，重复三次且最后一次离心时间为 1 分 30 秒；
  - 1.3 重新插入旋转柱底部的底盖；
  - 1.4 用 PBS 调节抗体样品量（100 $\mu$ g 抗体）至 100 $\mu$ l，然后立即将抗体溶液加入色谱柱，用盖子密封柱子；
  - 1.5 将树脂完全悬浮，颠倒混合，确保色谱柱内有流动，在室温下将色谱柱端-端混合后孵育 30 分钟；

- 1.6 取下底部盖子，将色谱柱放入干净的离心管中，松开顶盖，1000g 离心 1 分钟，收集脱糖抗体样本；
  - 1.7 装上底盖，加入 20 $\mu$ l PBS，用盖子密封色谱柱，将柱子颠倒几次；
  - 1.8 取下底部盖子，将色谱柱放入干净的离心管中，松开盖子，1000g 离心 1 分钟，收集脱糖抗体样本；
  - 1.9 重复操作步骤 1.7-1.8 两次；
  - 1.10 汇总收集到的脱糖抗体。
2. 转糖基化：连接特定的糖基化合物：
- 2.1 用 20  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O 复溶 Glycosyltransferase；
  - 2.2 根据表 1，对步骤 1.10 收集到的脱糖抗体进行叠氮基化；
  - 2.3 根据表 1，在步骤 2.2 的样品中加入适量 Glycosyltransferase ；
  - 2.4 盖上瓶盖。轻柔颠倒混合，将样品旋转至样品瓶底部；
  - 2.5 根据表 1，在室温下（22-24 $^{\circ}$ C）避光孵育。

表 1. 用于不同人 IgG 亚类的各项参数：

货号	人 IgG 亚类	Glycoform Azoture	Glycosyl-Transferase ( $\mu$ l)	孵育时间 (min)
QPF-102Z5	IgG1	将所有混合样品加入 Glycoform Azoture hIgG1/4 瓶中进行重塑	2	75
QPF-102Z6	IgG2	将所有混合样品加入一个 Glycoform Azoture hIgG2 的小瓶中进行重塑。将内容物转移到第二瓶 Glycoform Azoture hIgG2 中，重塑第二瓶糖基甘氨酸叠氮化物。	4	210
QPF-102Z5	IgG4	将所有混合样品加入 Glycoform Azoture hIgG1/4 瓶中进行重塑	2	90

3. 去除多余试剂：

- 
- 3.1 掰开 Protein A 纯化柱底部的塑料盖（保存盖子），稍微打开盖子。将色谱柱放入离心管中，200g 离心 1 分钟，除去储存液；
  - 3.2 将色谱柱放入离心管中，加入 300 $\mu$ l PBS 缓冲液。200g 离心 1 分钟，弃去废液；重复操作 3 次且最后一次离心时间为 1 分 30 秒；
  - 3.3 重新插入旋转柱底部的底盖；
  - 3.4 加入步骤 2.5 中的样品并用盖子密封色谱柱；
  - 3.5 使树脂完全悬浮，倒置混合，并确保色谱柱中有流动的树脂，在室温下将色谱柱端-端混合后孵育 25 分钟；
  - 3.6 取下底部盖子，将色谱柱放入微离心管中，轻轻打开顶盖，200g 离心 1 分钟，弃去废液；
  - 3.7 在树脂上加入 300 $\mu$ l PBS 缓冲液。使树脂充分悬浮，倒置混合，200g 离心 1 分钟，弃去废液，重复操作 4 次；
  - 3.8 准备 5 个含 4 $\mu$ l 1M Tris pH 8.0 的离心管；
  - 3.9 用底盖密封柱子，加入 20 $\mu$ l pH 2.5 的 0.1M 甘氨酸并用盖子密封色谱柱；将色谱柱倒置几次，使树脂充分悬浮；
  - 3.10 取下底部盖子，将色谱柱放入装有 Tris 的离心管中。轻轻打开顶盖，1000g 离心 1 分钟，洗脱抗体，重复操作 5 次；
  - 3.11 汇总收集到的抗体；
  - 3.12 收集到的叠氮活化抗体可在 4~8 $^{\circ}$ C 下保存至少一个月。

- 
- 注意事项**
- ✓ 使用前将 Immobilized EndoS2, Microspin 和 Protein A 纯化柱平衡至室温；
  - ✓ 离心前，需取下底盖并稍微打开顶盖；
  - ✓ 本产品仅供研发使用。
-

## 相关产品

产品名称	货号
PNGase F(Glycerol-free)	QPF-001
O-Glycosidase	QPF-004
$\alpha$ 2-3,6,8,9 Neuraminidase	QPF-005
$\beta$ 1-4 Galactosidase	QPF-006
$\beta$ -N-Acetylhexosaminidase	QPF-007
Protein Deglycosylation Kit I (for O-linked Glycans )	QPF-008
Protein Deglycosylation Kit II (for N-linked & Simple O-linked Glycans )	QPF-009
Protein Deglycosylation Kit III (for N-linked & Complex O-linked Glycans )	QPF-010
EndoS endoglycosidase	QPF-011
$\alpha$ 1-2 Fucosidase	QPF-013
$\alpha$ 1-2,4,6 Fucosidase	QPF-014
$\alpha$ 1-3,4 Fucosidase	QPF-015
Endo F1	QPF-016
Endo F3	QPF-017
$\alpha$ -N-乙酰半乳糖苷酶	QPF-018
Quick™ PNGase F -Plus	QPF-019
Immobilized PNGase F, Microspin	QPF-101
TransCOUPER™ 糖链重塑试剂盒	QPF-102
TransCOUPER™ 去岩藻糖链重塑试剂盒	QPF-103



## 联系我们

---

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话: [0512-87663137](tel:0512-87663137)
  - 技术支持: [techserv@rhinobio.com](mailto:techserv@rhinobio.com)
-

# RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司  
苏州瑞特佰生物科技有限公司  
网 址: [www.rhinobio.com](http://www.rhinobio.com)  
电 话: 0512-87663137  
邮 箱: [techserv@rhinobio.com](mailto:techserv@rhinobio.com)



公众号



联系客服

