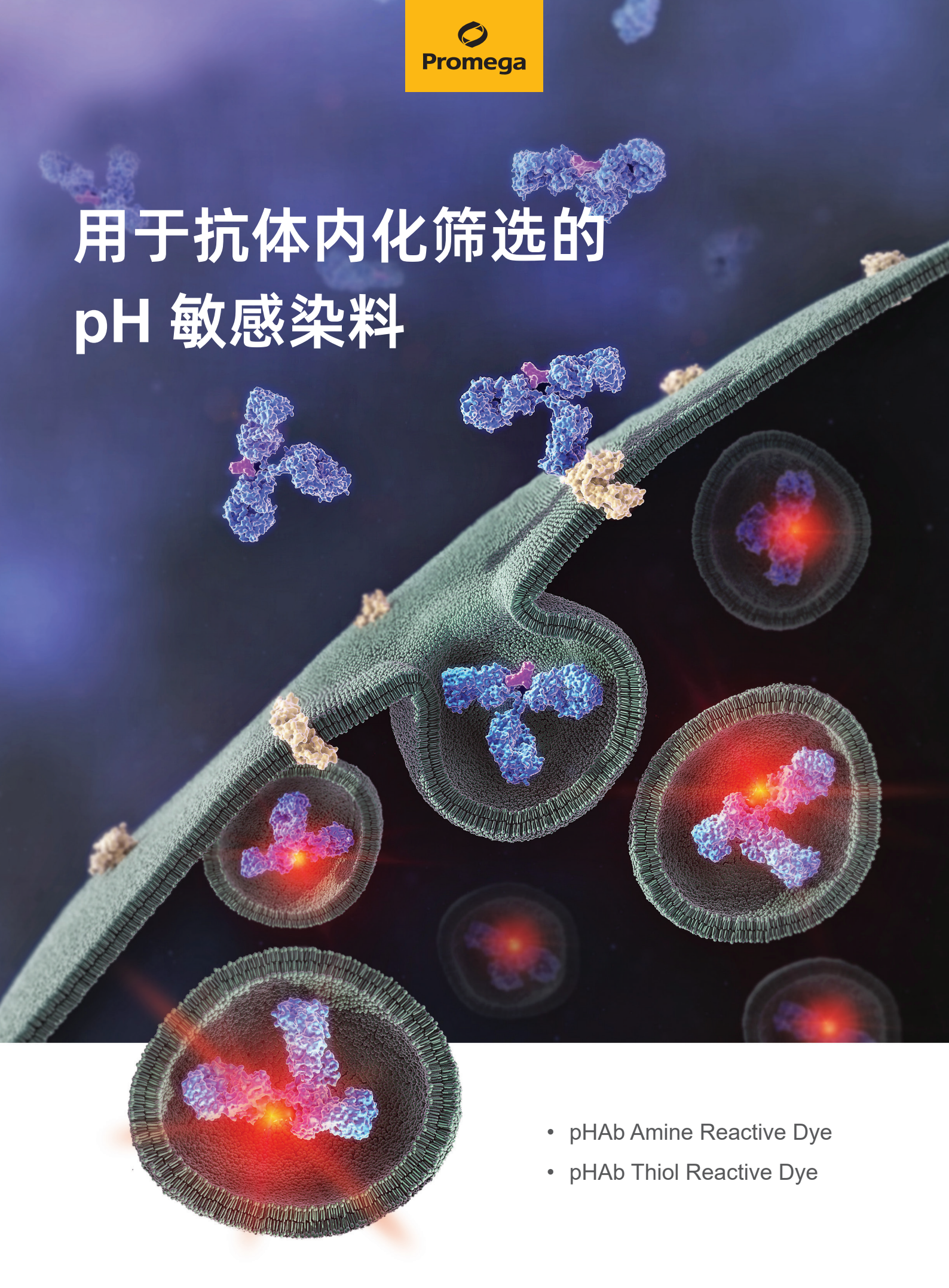


# 用于抗体内化筛选的 pH 敏感染料



- pHAb Amine Reactive Dye
- pHAb Thiol Reactive Dye

# 一个简单的基于孔板的检测方法用于抗体内化的筛选

## pHAb Amine 和 Thiol Reactive Dyes

pHAb 染料是一种 pH 传感器染料,其在 pH 值大于 7 时荧光强度极低,而当溶液酸性增强时,荧光强度会显著增加。

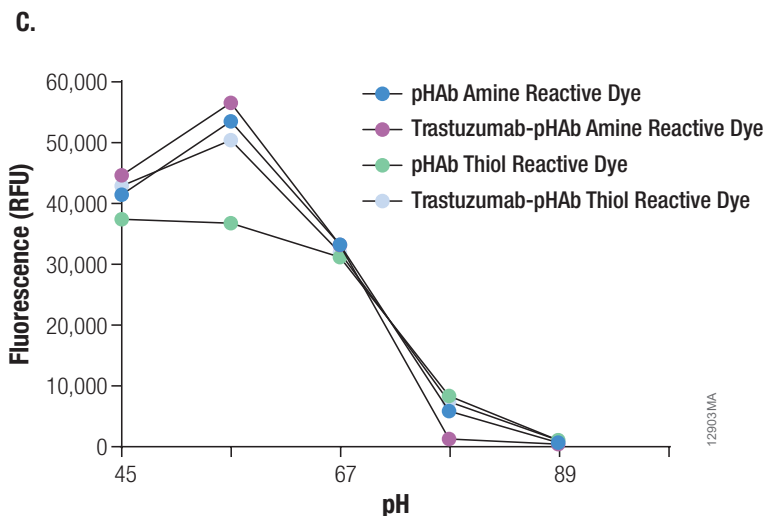
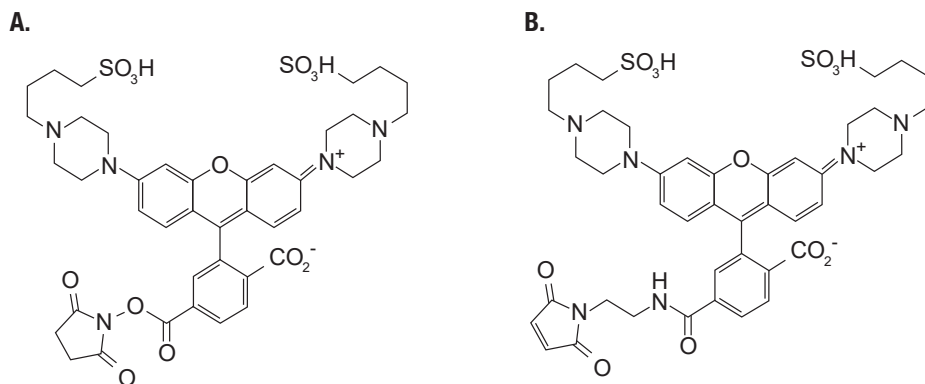
### ▶ pHAb 反应染料对 pH 值敏感

pHAb 反应性染料专门设计用于抗体的标记,并提供两种适用于抗体偶联的活性形式。

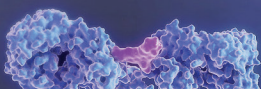
pHAb 氨基反应性染料包含一个琥珀酰亚胺酯基团,该基团能够与抗体上赖氨酸残基上的伯胺发生反应(图 A)。

pHAb 硫醇反应性染料含有一个马来酰亚胺基团,可以与硫醇发生反应(图 B)。这种马来酰亚胺基团在使用诸如 DTT 或 TCEP 等还原剂将抗体铰链区的半胱氨酸二硫键还原为硫醇后,会与抗体进行偶联。

无论是氨基反应性还是硫醇反应性的 pHAb 染料,在完成与抗体的偶联之后,仍能保持其对 pH 降低时荧光响应的能力(图 C)。



**pHAb 反应性染料的结构和 pH 应答。**图 A。pHAb 胺反应染料(分子量=882)用于标记抗体上赖氨酸残基的胺基。图 B。pHAb 硫醇反应染料(分子量=907)用于标记抗体铰链区域中还原半胱氨酸的硫醇。图 C。展示了用 pHAb 胺反应性染料或 pHAb 硫醇反应性染料标记的曲妥珠单抗(Trastuzumab)的荧光强度随 pH 值的变化情况,并与单独使用 pHAb 胺反应性染料或 pHAb 硫醇反应性染料进行了对比。

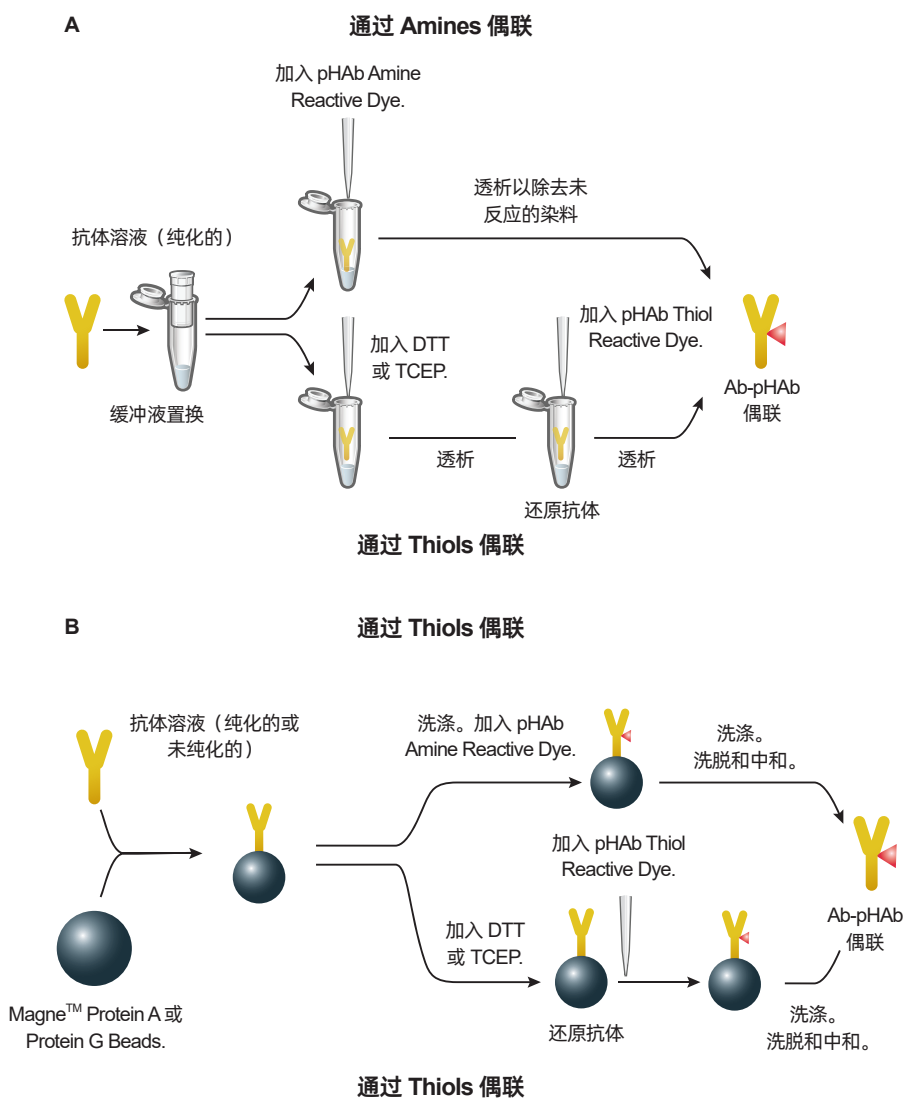


## ▶ pHAb 反应染料与抗体偶联的两种选择

在将 pHAb 反应性染料与抗体进行偶联时，有两种工作流程可选。

第一种是传统的基于溶液或溶液内化学反应的工作流程（图 A），该方法要求使用浓度为 1.0–5.0mg/ml 的纯化抗体，并需要进行多次缓冲液交换步骤。

第二种则是基于磁珠的偶联工作流程（图 B），该方法利用磁性蛋白 A 和蛋白 G 亲和磁珠选择性地从含有纯化抗体的溶液或直接从表达抗体的生物样本（例如细胞培养基）中捕获抗体。接着进行偶联步骤，随后通过低 pH 缓冲液洗脱出已与 pHAb 偶联的抗体，并迅速将其中和。

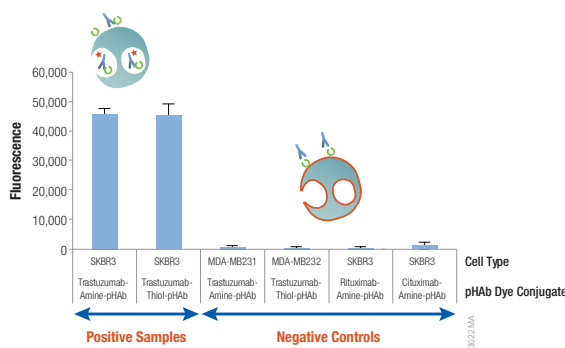


示意图显示了 pHAb 胺基和硫醇反应染料可以与抗体结合的两种工作流程。

图 A. 传统的基于溶液的抗体偶联。图 B. 使用 Magne™ Protein A 磁珠或 Magne™ Protein G 磁珠对抗体进行基于磁珠的偶联。

## 用于受体介导的抗体内化研究

pHAb 染料标记的抗体可用于监测受体介导的抗体内化过程。当 pHAb 反应性染料偶联物与细胞膜上的受体结合时，其荧光强度极低。然而，在受体介导的内化过程中，抗体-pHAb 染料偶联物会被转运至酸性的内体和溶酶体囊泡中，此时 pHAb 染料会发出荧光。这种荧光强度的增强可以通过多种检测技术观察到，包括细胞成像、流式细胞术以及配备合适滤光片的荧光读板仪等手段。



pHAb 染料的内化荧光特性使得 96 孔板等基于孔板的实验得以实现。SKBR3, HER2 阳性细胞和 MDA-MB231, HER2 阴性细胞被接种在 96 孔黑色透明底板中并过夜培养。通过基于磁珠的偶联方式，将曲妥珠单抗及 IgG（阴性抗体对照）分别与 pHAb 氨基反应性染料或 pHAb 硫醇反应性染料进行偶联。

### 产品订购

| Product                 | Size      | Cat.#        |
|-------------------------|-----------|--------------|
| pHAb Amine Reactive Dye | 1 × 250µg | <b>G9841</b> |
|                         | 4 × 250µg | <b>G9845</b> |
| pHAb Thiol Reactive Dye | 1 × 250µg | <b>G9831</b> |
|                         | 4 × 250µg | <b>G9835</b> |

### 相关产品

| Product                            | Size          | Cat.#        |
|------------------------------------|---------------|--------------|
| Magne™ Protein G Beads, 20% Slurry | 1ml           | <b>G7471</b> |
|                                    | 5ml (5 × 1ml) | <b>G7472</b> |
|                                    | 50ml          | <b>G7473</b> |
| Magne™ Protein A Beads, 20% Slurry | 1ml           | <b>G8781</b> |
|                                    | 5ml (5 × 1ml) | <b>G8782</b> |
|                                    | 50ml          | <b>G8783</b> |

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

Magne is a trademark of Promega Corporation.

Products may be covered by pending or issued patents or may have certain limitations. Please visit our Web site for more information.

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司  
Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

地址：北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话：010-58256268

网址：www.promega.com

技术支持电话：400 810 8133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

更新时间：2024.3



欢迎关注 Promega 生命科学