

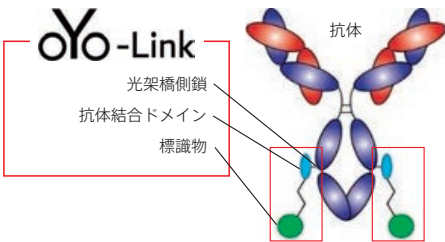
Point

- 均質な標識抗体 (Fc 領域に最大 2 か所) が得られます。
- ビオチン, クリックケミストリータグ (アジドやチオール), オリゴヌクレオチド, 細胞傷害薬物などを抗体に標識できます。
- 実験操作はお手持ちの抗体と oYo-Link 試薬を混ぜるだけです*1。
- 本製品は抗体結合ドメインと標識物が結合した状態で納品され, お客様自身で抗体との結合反応を行います。



*1 UV (365 nm, ブラックライト) 照射が必要です (下記参照)。

oYo-link の原理・操作方法概略



ステップ① oYo-Link を抗体と混合する

→ oYo-Link 中の抗体結合ドメインが, 抗体の Fc 領域に結合します。

ステップ② 氷上で UV*2 (365 nm ; ブラックライト) を照射*3 する

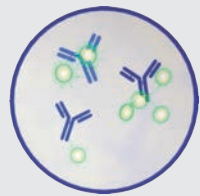
→架橋反応 (共有結合) が起こり, 抗体の Fc 領域に標識物が最大 2 か所標識されます。

*2 UV 照射には専用の UV リンカー (別売) が必要です。2 週間の貸し出しデモを実施しております。詳細はフナコシ Web をご覧ください。

*3 メーカーでは oYo-Link を用いて標識した抗体の UV 照射 (365 nm, ブラックライト) による影響を確かめておりますが, 抗体の結合能などに影響は確認されていません。

oYo-link の特長

ここがすごい



従来の抗体標識キット

✓不均一な標識

部位がランダム, 複数か所に標識されてしまう

✓抗原結合部位も標識される

抗体活性に悪影響を及ぼす

抗体標識試薬の多くは, 抗体のリジン残基側鎖のアミノ基 (-NH₂) を介して抗体を標識します。しかし抗体には多くのリジン残基が存在し, 抗体ごとにリジン残基の数と位置が異なるため, 部位非特異的で不均一な標識が生じます。そのため, ELISA などイムノアッセイにおいて抗体の配向性がランダムになります。



oYo-Link (オヨリンク) なら均一な標識抗体が得られます!

✓Fc 領域に部位特異的な標識が可能

✓抗原結合部位 (可変部位) に影響しない

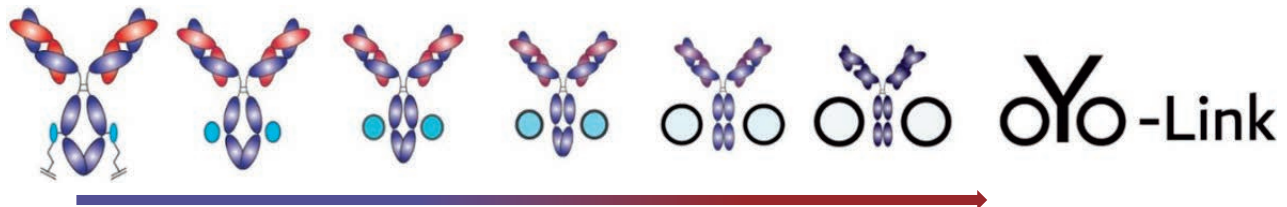
✓最大 2 か所に標識 (重鎖毎に 1 つずつ)

✓実際の操作時間たった 30 秒! 2 時間以内に標識が完了

oYo-Link は抗体の Fc 領域のみに最大 2 か所, 共有結合で標識します。抗体の抗原結合部位に影響を与えないため, 実験の信頼性と再現性が向上します。また, ELISA などイムノアッセイの際の抗体の配向性を均一にし, 抗原結合部位の密度の改善をもたらすことによって, 感度を向上させる可能性があります。

oYo-Link という名前の由来

oYo-Link という名前は, oYo-Link で標識された抗体が「oYo」という文字に似ていることに由来しています。AlphaThera 社の創業チームは, 創業間もない頃に自分達の技術を説明するため, 色々アイデアを出し合った中から, この名前を採用しました。oYo-Link は, 低分子量 (約 8 kDa) の高親和性抗体結合ドメイン (+光架橋側鎖+標識物) からなり, 光照射によって定常領域 (Fc) に光架橋され, 抗体結合ドメインは各々の重鎖 (Y) に 1 つずつ (o, o) 共有結合します。



バイオ医薬品、特に抗体-薬物複合体 (ADC) について、従来製品に対する oYo-Link の強み

ADC の開発において oYo-Link ADC 標識試薬を使うことで、迅速でハイスループットな細胞傷害アッセイが可能です。

✓ 不確実性を最小限に抑えた、均一で部位特異的な標識

oYo-Link による部位特異的な標識は、結合部位を正確にコントロールできるため、均一な ADC を作製します。部位特異的な標識により、薬物は常に Fc 領域に結合し、その他の結合可能領域に影響を受けません。さらにこの結合は、1 抗体あたり 1~2 薬物という明確な薬物抗体比となるため、予測可能な有効性と毒性プロファイルを持つ一貫した ADC を生み出すことができます。

✓ 余分な薬物の精製が不要

抗体と結合していない薬物結合の oYo-Link は、細胞に対して毒性を示しません。そのため、抗体結合後の精製は不要であり、そのまま細胞傷害アッセイに移行することができます。これにより、ADC のプロトタイピングにかかる時間が大幅に短縮され、ハイスループット実験に柔軟に対応できるようになります。

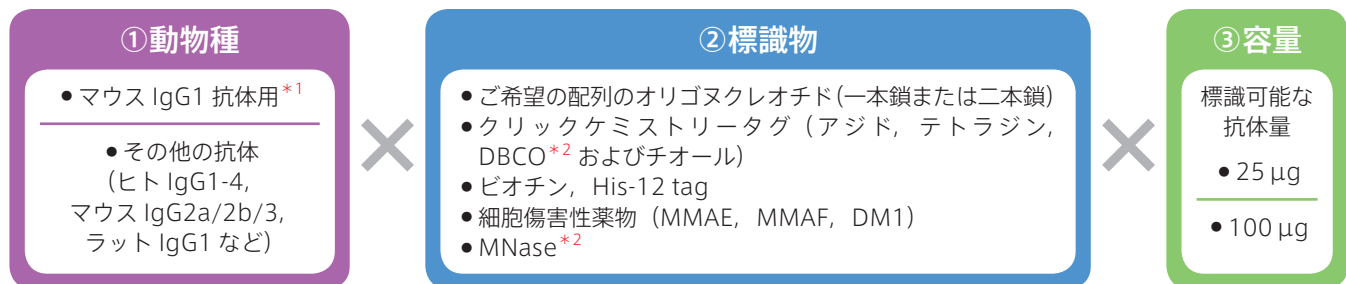
✓ 抗体使用量の削減

oYo-Link ADC 標識試薬は、わずか 1 µg の抗体でも標識できるため、1 回の実験に使用する抗体と薬物の量が少量で済み、より多くの実験を行うことができます。これによりコストを削減し、よりハイスループットなスクリーニングを可能にします。

✓ SDS-PAGE で標識抗体を簡単に確認することが可能

oYo-Link は、8 kDa の小さな光反応性抗体結合ドメインからなり、UV 照射により抗体の重鎖を部位特異的に共有結合で標識します。光架橋されると、抗体重鎖の分子量がわずかに増加しますが、SDS-PAGE 上ではこれを顕著な上方シフトとして容易に検出することができます。

豊富な製品ラインナップ



*1 マウス IgG1 抗体用とその他の IgG 抗体用で試薬が異なります。マウス IgG1 抗体用の試薬はマウス IgG1 以外では使用できませんのでご注意ください。他の動物種については、共通して試薬を使用できます。

*2 DBCO 標識用試薬 (#AT3003), MNase 標識用試薬 (#AT6001) は一回のご注文につき、別途輸送費として ¥18,000 が必要となります。

※商品コード、価格についての詳細はフナコシ Web をご覧ください。

Q & A

Q バッファーにアルブミンや Tris が含まれていても標識できますか？

A 可能です。oYo-Link は IgG の重鎖に特異的に結合するため、アルブミンや Tris がバッファー中に含まれていても標識できます。ただし、通常より高濃度の Azide (>1%), グリセロール (>50%), その他の化合物は oYo-Link の反応を阻害する可能性があります。使用可能なバッファーについては Web ページ番号 : 69769 の Buffer Table をご確認ください。

Q 標識が成功したかはどのように確認すればよいですか？

A SDS-PAGE で確認できます。メーカーサイト (alphathera.com) の各製品ページの Supporting data に例がありますので、ご参照下さい。

Q UV 照射 (365 nm) は、抗体や抗体の機能に影響はないですか？

A oYo-Link を用いて標識した抗体と未標識抗体を用いて ELISA および Cell binding assay で結合試験を行っており、結果に違いは確認されていません。なお、一般的にクリーンベンチなどで用いられている UV 光 (波長 : 250 nm) は抗体にダメージを与えます。oYo-Link を用いた抗体標識では推奨波長以外の UV 光は照射しないで下さい。

Q 標識後、未反応の oYo-Link は除去した方がよいでしょうか？

A ほとんどのイムノアッセイの実験において、標識後の精製は不要です。

メーカーの標準プロトコルでは、oYo-Link と抗体とのモル比は 5 : 1 です。この条件で反応を行うと、抗体の標識効率は最大限となります。しかし、抗体混合物には未反応の oYo-Link がわずかに残ります。この未反応の oYo-Link は通常、イムノアッセイの洗浄の工程で除去されます。

もし高い純度の抗体-標識物が必要で、未反応の oYo-Link を除去する場合は、IgG セファロースを使用することをお勧めします。このプロセスの詳細についてはフナコシ (株) のテクニカルサポート (試薬担当) までお問い合わせ下さい。100 kDa または 50 kDa の分子量カットオフのスピンフィルターも使用できます。ただし、フィルターによって抗体を失う可能性があり、抗体の回収率が低くなる場合があります。

