



产品说明书

Rhinogen[®] 固定化 IdeS 蛋白酶离心柱

Rhinogen[®] Immobilized IdeS, Microspin

适用于重组抗体药物的结构表征分析

产品货号：QIP-101-A，QIP-101-B，QIP-101-C

目 录

目 录	1
产品信息	2
试剂包装	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
实验准备	4
推荐使用方法	4
柱平衡	4
消化	4
酶切产物收集	4
操作说明	5
相关产品	6
参考文献	7
产品文档及支持	8
产品文档	8
技术支持	8

产品信息

试剂包装 Rhinogen® Immobilized IdeS, Microspin 包装规格如下:

目录号	组成
	Immobilized IdeS, Microspin
QIP-101-A	1 支
QIP-101-B	5 支
QIP-101-C	10 支

一支 Immobilized IdeS, Microspin 可用于消化 0.5mg IgG。

产品储存于 20%乙醇中，不添加防腐剂。

保藏条件 采用冰袋运输，Immobilized IdeS, Microspin产品储存于20%乙醇中，收到产品后请立即将其置于2-8℃保存。**避免冻存！**

产品综述

背景

来自 *Streptococcus pyogenes* 的 IdeS protease 是仅在铰链区下方的一个特定位点裂解 IgG 以产生 F(ab')₂ 和 Fc 片段的免疫球蛋白降解酶。由于 IdeS protease 在一个特定位点消化 IgG，因此延长孵育时间也没有过度消化的风险。

概述

Rhinogen® IdeS protease 是利用 *E. coli* 表达系统重组表达生产并经过分子改造得到的重组 IdeS 蛋白酶，分子量大小约为 36 kDa。其仅在铰链区下方的一个特定位点裂解 IgG 以产生 F(ab')₂ 和 Fc 片段。且在生理条件下切割 IgG，从而保持免疫原性。在 pH 6.0~8.0 范围的常用缓冲液中，IdeS 蛋白酶可有效切割多种抗体。经过改造后的 IdeS 蛋白酶具有更高的酶活和更广的底物特异性，除可酶切人 IgG1~4（切割位点如下表 1）、猴、羊、兔 IgG 外，还对小鼠 IgG2a、IgG3 具有特异性切割活性。

表 1. 人 IgG 切割位点

人 IgG 种类	切割位点
人 IgG1	HTCPPCPAPELLG↓GPSVF
人 IgG2	VECPPCPAPP_VA↓GPSVF
人 IgG3	PPCPRCPAPELLG↓GPSVF
人 IgG4	PHAHHAQAPEFLG↓GPSVF

Rhinogen® Immobilized IdeS, Microspin 是一种将 Rhinogen® IdeS protease 共价偶联到琼脂糖珠的树脂，可在特定位点裂解 IgG 以产生 F(ab')₂ 和 Fc 片段。消化完成后的溶液内，可得到 F(ab')₂ 和 Fc 片段，而不含 IdeS 酶。

应用

重组抗体药物的结构表征分析。

特性

Rhinogen® Immobilized IdeS, Microspin 具有如下特性：

- ✓ **使用方便：**消化完成后，通过离心即可分离得到消化产物；
- ✓ **回收率高：**F(ab')₂ 回收率 > 85% 以上；
- ✓ **稳定性高：**每批产品都经过严格的质量控制，以实现产品批间稳定性。

操作方法

实验准备

本产品包含一种用于 IgG 消化的 Immobilized IdeS, Microspin, 离心柱的结构如下图:

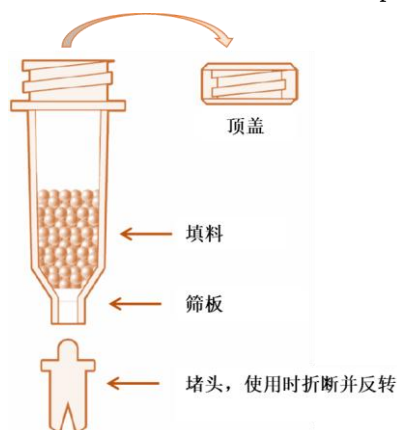


图 1. 离心柱结构图

需自备物料及试剂如下:

收集管: 1.5-2ml 透明 EP 管。

消化缓冲液: 10mM PB, 10mM NaCl, pH6.5。

样品制备: 使用消化缓冲液将至多 0.5mg 的 IgG 样品稀释到 100~300μl。

推荐使用方法 柱平衡

- 1) 折断 Immobilized IdeS, Microspin 堵头, 将离心柱放入收集管中, 拧松顶盖。200 ×g 离心 1 分钟去除储存液;
备注: 堵头请勿丢弃, 后续需多次使用。
- 2) 加入 300μl 消化缓冲液平衡离心柱, 200 ×g 离心 1 分钟, 重复 2 次; 离心结束后堵上堵头。

消化

- 1) 将待消化 IgG 样品 (0.5mg in 100-300μl) 加到离心柱中, 并盖好顶盖, 颠倒混合, 确保柱内有流动, 以使底物与固定化酶充分结合;
- 2) 室温 (大于 26℃) 条件下, 上下或左右颠倒孵育 30 分钟。
备注: 对于切割效率低的底物, 建议适度提高酶切温度 (温度越接近 37℃, 酶活越高) 或延长酶切时间。

酶切产物收集

- 取下堵头, 将离心柱放入收集管中, 轻轻打开顶盖, 1000 ×g 离心 1 分钟收集抗体酶切片段。
- 为获得最大回收率, 加入 100μl 消化缓冲液, 颠倒混匀后, 1000 ×g 离心 1 分钟。重复 2 次。
备注: 酶切产物第一次离心收集, 回收率 > 85%; 增大回收率的步骤会导致样品浓度稀释, 若需要较高浓度酶切产物, 则不建议多次洗涤收集。

操作说明

- Rhinogen® Immobilized IdeS, Microspin 能有效地用于酶切人类、人源化、嵌合、羊、兔和猴的 IgG，并对小鼠 IgG2a 和 IgG3 也具有中等活性。同时也适用于许多 Fc-融合蛋白以及抗体药物缀合物（antibody drug conjugates, ADCs）的酶切；不适用于小鼠 IgG1/IgG2b、大鼠、猪、牛或山羊 IgG。此外，它不能切割非 IgG 同种型，包括 IgA、IgM、IgD 和 IgE；
- 对于小鼠 IgG2a 和小鼠 IgG3 的切割，建议适度提高孵育温度（酶切温度越接近 37℃，则酶活越高）及孵育时间（2 小时至过夜）；
- 理想的 IgG 浓度应在 0.5-20mg/ml 的范围内；
- 通过 SDS-PAGE 很容易确定 IgG 的切割；
- 将消化产物与 protein A 磁珠孵育 30~60 分钟后，可以获得纯化的 F(ab')₂ 片段；另瑞安生物可提供产品 Rhinogen® Immobilized IdeS Cut-Pure Kit, Microspin（货号：QIP-102），内包含 Immobilized IdeS, Microspin 及 Protein A 纯化柱，详询网站 <http://www.rhinobio.com>；
- 最适的酶切反应缓冲液 pH 为 6.0~8.0，在低于 pH5.0 体系中，IdeS 固定化酶会不可逆的失活，在高于 pH8.0 体系中需要适当延长/优化反应条件；
- 本产品仅供研究使用，不适用于人或动物的诊断及治疗用途。

相关产品

产品名称	货号
Rhinogen® IdeS protease	QIP-001
Rhinogen® Immobilized IdeS Cut-Pure Kit, Microspin	QIP-102
Rhinogen® IgdE protease	QIP-007

参考文献

-
- [1] Mary H. Ryana, Diane Petrone, Jennifer F. Nemetha, Evan Barnathan, Lars Björck, Robert E. Jordan. Proteolysis of purified IgGs by human and bacterial enzymes in vitro and the detection of specific proteolytic fragments of endogenous IgG in rheumatoid synovial fluid[J]. Molecular Immunology, October 2007.
- [2] Vincents, von Pawel-Rammingen, Björck & Abrahamson. Enzymatic Characterization of the Streptococcal Endopeptidase, IdeS, Reveals That It Is a Cysteine Protease with Strict Specificity for IgG Cleavage Due to Exosite Binding[J]. Biochemistry (2004), 43: 15540-15549.
- [3] Wenig, Chatwell, von Pawel-Rammingen, Björck, Huber & Sonderrmann. Structure of the streptococcal endopeptidase Ides, a cysteine proteinase with strict specificity for IgG[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 101, No.50. (Dec. 14, 2004): 17371-17376.
- [4] von Pawel-Rammingen, Johansson & Björck; IdeS, a novel streptococcal cysteine proteinase with unique specificity for immunoglobulin G[J]. The EMBO Journal vol. 21 No 7: 1607-1615 (2002).
- [5] Björck, Åkesson, Bohus, Trojnar, Abrahamson, Olafsson, Grubb. Bacterial growth blocked by a synthetic peptide based on the structure of a human proteinase inhibitor[J]. Nature vol. 337 January (1989).
-

产品文档及支持

产品文档

登录 <http://www.rhinobio.com/> 获取产品相关服务及支持，包括：

- 常见问题查询
- 说明书下载
- 质检报告（COA）下载
- 化学品安全技术说明书（MSDS）下载

技术支持

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：

- 1) 电 话：0512-87663137
 - 2) 邮 箱：techserv@rhinobio.com
-

上海泰坦科技股份有限公司

产品订购，请访问 www.tansoole.com 或致电 400-111-6333

生产商

苏州瑞安生物科技有限公司

寻求技术支持，请访问 www.rhinobio.com 或电邮 techserv@rhinobio.com.