



产品使用说明书

Rhinogen[®] FabCOUPER protease

货号：QIP-009



目 录

目 录	1
产品信息	2
试剂包装	2
产品来源	2
产品特性	2
酶活定义	2
保藏条件	2
产品综述	3
背景	3
概述	3
应用	3
操作方法	4
实验准备	4
抗体消化	4
注意事项	4
常见问题	5
相关产品	6
联系我们	7

产品信息

试剂包装 Rhinogen® FabCOUPER protease 包装规格如下:

目录号	规格	浓度
QIP-009	1000U	20U/μl

可消化至多 1mg 人 IgG1。

产品储存于 50 mM Tris-HCl、150mM NaCl、1mM EDTA, pH7.6 中, 不添加防腐剂。

配套提供的试剂如下:

目录号	试剂	成分
EB14	20×CaCl ₂	200mM CaCl ₂ , pH7.6

产品来源 FabCOUPER protease 重组表达于 *E. coli*, 理论分子量约 71.82KD。

产品特性 FabCOUPER protease 是一种蛋白酶, 可在铰链上方的单个位点特异性消化人 IgG1, 无需还原条件即可在两小时内产生完整的 Fab 和 Fc 片段。该酶对具有突变铰链区的抗体 (例如 LALA 突变) 具有活性。

酶活定义 在 50mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 10mM CaCl₂, pH7.6 条件下, 37°C 孵育 2 小时, 1 单位酶 (1U) 可消化 1μg 人 IgG1 的 ≥90%, 通过 SDS-PAGE 确认。

保藏条件 冷藏运输, 到达时应储存在 -70°C ~ -20°C 条件下。
由于 FabCOUPER protease 具有自降解活性, 解冻后应保持低温并尽量在的同一天使用。同时可适当分装后冻存, 避免多次冻融。

产品综述

背景

FabCOUPER protease 重组表达于 *E.coli*, C 端带 6×His 标签。可在铰链上方的单个位点特异性消化人 IgG1, 无需还原条件即可在两小时内产生完整的 Fab 和 Fc 片段。

概述

FabCOUPER protease 在铰链上方的单个位点 (...KSCDK/THTCPPCP...) 消化人 IgG1, 生成完整的 Fab 和 Fc 片段。如果去除 N-聚糖, 则 Fc 上可能会出现第二个消化位点。FabCOUPER protease 在天然条件下具有活性并且需要钙离子的存在, 但被 Zn^{2+} 抑制, 同时被丝氨酸蛋白酶抑制剂及 EDTA 抑制; 最适温度 37°C, 在 22~30°C 也显示出活性。在 pH7-8.5 时获得最佳活性。

应用

突变抗体和 Fc 融合蛋白消化及结构分析。

操作方法

实验准备

- ✓ 配制消化缓冲液：50mM Tris-HCl, 150mM NaCl, pH7.6;
- ✓ 使用前, 请将 Rhinogen[®] FabCOUPER protease 从-20°C取出解冻, 瞬离备用;
- ✓ 将 20×CaCl₂ 从-20°C取出解冻, 瞬离备用。

抗体消化

- 1、使用消化缓冲液将人 IgG1 调整至 0.5-5.0mg/ml;
- 2、按 1U FabCOUPER protease/1μg 人 IgG1 的比例进行消化, 确保最终反应体系中含有 10mM CaCl₂;
- 3、以消化 100μg 人 IgG1 (2mg/ml) 为例, 将 50μl 人 IgG1 加入到 EP 管中, 加入 5μl FabCOUPER protease (20U/μl), 加入 5μl 20×CaCl₂, 加入 40μl 消化缓冲液补足至 100μl;
- 4、轻柔混匀后瞬离, 37°C条件下反应 2 小时。

注意事项

- ✓ 根据底物的不同, 可能需要优化酶的用量和消化时间;
 - ✓ 反应可以线性放大或缩小;
 - ✓ 酶液可以适当稀释;
 - ✓ 最终的 CaCl₂ 浓度应为 10mM。如果调整了反应体积, CaCl₂ 溶液的体积也必须调整。
-

常见问题

**是否可以调整
消化温度？**

FabCOUPER protease 的最适温度 37°C，在 22~30°C 也显示出活性，在 4°C 或 55°C 检测不到明显活性。

**该怎么选择消
化缓冲液？**

在 pH 值为 7.0-8.5 的 TBS 缓冲液中可获得最佳活性。其它类型的缓冲液可能需要实验验证。应避免含有磷酸盐的缓冲液，因为磷酸盐离子会与酶活性所需的钙离子一起形成不溶性磷酸钙盐。

**酶的自降解是
否会影响抗体
消化？**

FabCOUPER protease 长时间孵育可导致蛋白酶完全降解，但自降解后的酶保持酶活性，延长孵育时间并不会产生非特异性水解。

相关产品

产品名称	货号
IdeS protease	QIP-001
Chymotrypsin (Sequencing Grade)	QIP-002
Trypsin (Sequencing Grade)	QIP-003
Endoproteinase Lys-C	QIP-004
Glu-C (Sequencing Grade)	QIP-005
Carboxypeptidase B	QIP-006
IgdE protease	QIP-007
<i>O</i> -Glycoprotease	QIP-008
GlyCOUPER protease	QIP-010
Quick™ Trypsin (Sequencing Grade)	QIP-012
<i>O</i> -GlyCORPAR protease	QIP-013
Immobilized IdeS, Microspin	QIP-101
Immobilized IdeS Cut-Pure Kit, Microspin	QIP-102

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
-

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



公众号



联系客服

