

IdeZ Protease (IgG-specific)

产品编号	产品名称	包装
P2526S	IdeZ Protease (IgG-specific)	1KU
P2526M	IdeZ Protease (IgG-specific)	5KU
P2526L	IdeZ Protease (IgG-specific)	20KU

产品简介:

- 碧云天生产的IdeZ Protease (IgG-specific), 即 Immunoglobulin-degrading Enzyme from Streptococcus Equi Subspecies Zooepidemicus Protease, 也称免疫球蛋白特异性IdeZ蛋白酶, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的一种免疫球蛋白IgG降解酶(Immunoglobulin G-degrading enzyme)。
- IdeZ Protease具有极高的底物特异性, 仅能识别人等特定种属和特定类型的IgG, 并在抗体较链区下方的特定位点进行酶切, 使IgG水解为完整的F(ab')₂片段和Fc片段(参考图1)。IdeZ Protease作为工具酶主要应用于抗体类药物或抗体融合蛋白药物的结构表征分析, 制备仅包含F(ab')₂片段的抗体或抗体的Fc片段, 也可用于免疫沉淀后Western检测时去除重链对于目标蛋白检测的干扰等用途。

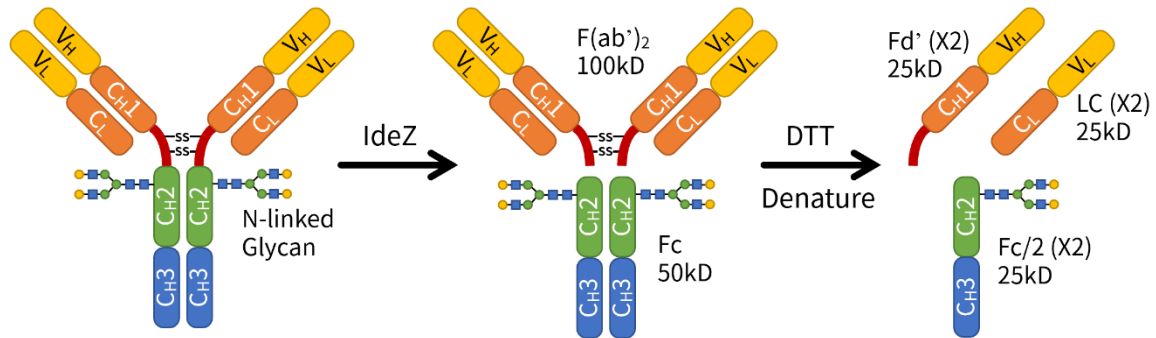


图1. IdeZ Protease (IgG-specific)用于切割人IgG的效果示意图。IdeZ Protease酶切后, 在非还原性和非变性条件下可以产生100kD的F(ab')₂和50kD的Fc; 如果在变性和还原性条件下会产生2个25kD的Fd'片段, 2个25kD的LC片段和2个25kD的Fc/2片段。酶切过程中或非酶切过程中都可使用PNGase F (P2318)对抗体进行去糖基化。

- IdeZ Protease可有效切割人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4, 还可以切割兔、大鼠、猴、绵羊(Sheep)、人源化和嵌合的IgG以及Fc融合蛋白, 如Enbrel [1]。但IdeZ Protease不能切割小鼠IgG1/IgG2b, 猪、牛或山羊IgG, 以及非IgG同种免疫球蛋白, 包括IgA、IgM、IgD和IgE。与IdeS Protease相比, IdeZ Protease对大鼠、小鼠IgG2a和IgG3的酶切活性显著提高。
- 碧云天生产的IdeZ Protease (IgG-specific)用于切割人、兔和驴IgG的效果参考图2。

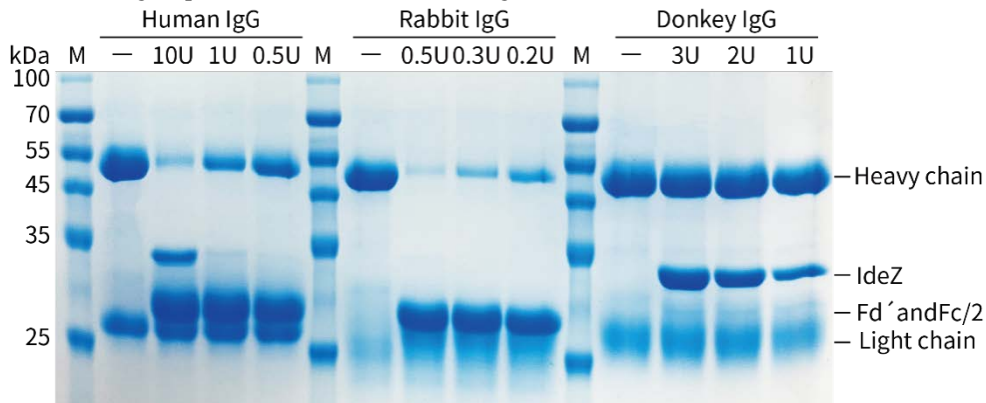


图2. 碧云天生产的IdeZ Protease (IgG-specific) (P2526)用于切割人、兔和驴IgG的效果图。在25μl反应体系(50mM Sodium Phosphate (pH7.5 @25°C))中, 加入10μg人、兔和驴IgG (A7001/A7016/A7039), 再加入2.5μl的10X Reaction Buffer以及图中指定量的本产品, 然后用超纯水补至25μl, 37°C孵育30分钟进行酶切。反应结束后, 立即65°C孵育10分钟以终止反应。取出10μl反应产物, 加入2μl SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(6X) (P0015F), 进行12%聚丙烯酰胺凝胶电泳和考马斯亮蓝染色(P0017F BeyoBlue™考马斯亮蓝超快染色液), 拍照观察结果。实验结果表明, 本产品对人和兔IgG具有明显的切割效果, 并且对于兔IgG有非常高的酶活性, 但不能特异性识别与切割驴IgG。实际使用效果会因实验条件、实验材料等的不同而存在差异, 图

中效果仅供参考。

➤ 碧云天生产的IdeZ Protease (IgG-specific)用于切割大鼠IgG的效果参考图3。

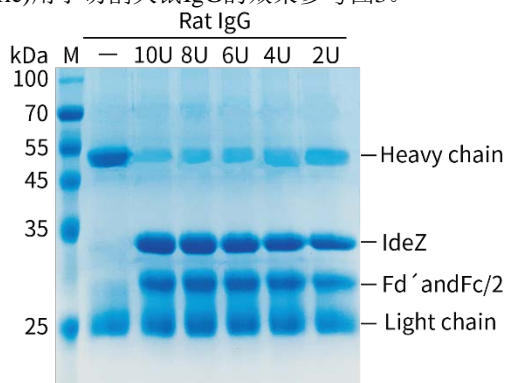


图3. 碧云天生产的IdeZ Protease (IgG-specific) (P2526)用于切割大鼠IgG的效果图。在25 μ l反应体系(50mM Sodium Phosphate (pH7.5 @25 $^{\circ}$ C))中, 加入10 μ g大鼠IgG (A7031), 再加入2.5 μ l的10X Reaction Buffer以及图中指定量的本产品, 然后用超纯水补至25 μ l, 37 $^{\circ}$ C孵育120分钟进行酶切。反应结束后, 立即65 $^{\circ}$ C孵育10分钟以终止反应。取出10 μ l反应产物, 加入2 μ l SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(6X) (P0015F), 进行12%聚丙烯酰胺凝胶电泳和考马斯亮蓝染色(P0017F BeyoBlue™考马斯亮蓝超快染色液), 拍照观察结果。实验结果表明, 本产品能识别并切割大鼠IgG, 但酶切效率相对较低, 需要增加使用酶量或延长反应时间才能达到充分切割的目的。实际使用效果会因实验条件、实验材料等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 本产品具有良好的酶切活性并含有His标签, 在酶切完成后可以使用镍柱很容易地从酶切反应体系中分离去除含有His标签的IdeZ Protease。
- **分子量:** 约为33kDa。
- **用途:** 抗体类药物或抗体融合蛋白药物的结构表征分析, 酶切产生制备仅包含F(ab')₂片段的抗体或抗体的Fc片段, 也可以用于免疫沉淀后Western检测时去除重链对于目标蛋白检测的干扰等用途。
- **来源:** 纯化自携带编码IdeZ Protease基因的*E.coli*重组菌株。
- **酶活性:** IdeZ Protease (IgG-specific) is a recombinant antibody specific protease that recognizes all human, rabbit, rat, sheep and monkey IgG subclasses, cleaving specifically at a single recognition site below the hinge region, to yield a homogenous pool of F(ab')₂ and Fc fragments. IdeZ Protease (IgG-specific) more effectively cleaves murine IgG2a than IdeS Protease.
- **活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to cleave >95% of 1 μ g of human IgG, in 15 minutes at 37 $^{\circ}$ C in a total reaction volume of 10 μ l.
- **纯度:** 经SDS-PAGE检测, 纯度大于95%; 且不含除IdeZ Protease之外的其它种类蛋白酶, 不含DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶, 不含磷酸酯酶。
- **酶储存液:** 20mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM EDTA (pH7.5 @25 $^{\circ}$ C)。
- **IdeZ Protease Dilution Buffer:** 20mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM EDTA (pH7.5 @25 $^{\circ}$ C)。
- **10X Reaction Buffer:** 500mM Sodium Phosphate (pH7.5 @25 $^{\circ}$ C)。
- **失活或抑制:** 65 $^{\circ}$ C孵育10分钟, 可使IdeZ Protease失活。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P2526S-1	IdeZ Protease (10U/ μ l)	0.1ml
P2526S-2	IdeZ Protease Dilution Buffer	0.2ml
P2526S-3	10X Reaction Buffer	0.2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P2526M-1	IdeZ Protease (10U/ μ l)	0.5ml
P2526M-2	IdeZ Protease Dilution Buffer	1ml
P2526M-3	10X Reaction Buffer	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P2526L-1	IdeZ Protease (10U/ μ l)	2ml
P2526L-2	IdeZ Protease Dilution Buffer	4ml
P2526L-3	10X Reaction Buffer	4ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 两年有效。避免反复冻融, 建议首次使用时适当分装后冻存使用。

注意事项:

- IdeZ Protease使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- IdeZ Protease对不同物种IgG的酶切效率存在较大差异, 酶切特定物种的IgG时, 建议适当摸索反应孵育时间和使用酶量。IdeZ Protease对小鼠IgG2a和IgG3的切割效率偏低, 建议增加IdeZ Protease的使用量(建议5倍至10倍作为起点)或延长反应孵育时间(2小时至过夜)以实现小鼠IgG2a和IgG3的充分酶切。
- IdeZ Protease在中性pH或接近中性pH的缓冲体系中活性最强, 且酶切体系中盐浓度不宜过高, 推荐使用本产品提供的10X Reaction Buffer进行酶切反应。在使用pH6-8范围以外的缓冲液(例如醋酸盐缓冲液)时, 孵育时间或酶量需要根据实际情况进行优化。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 首次打开管盖前, 建议8,000-12,000×g离心约10秒, 使附着在管盖或管壁上的蛋白聚集于管底。随后取IdeZ Protease液体产品, 按照20μl/管分装到1.5ml的离心管中, -20°C保存, 以避免反复冻融影响酶活。
2. 室温解冻IdeZ Protease, 并参考下表在冰浴中配制反应体系(以25μl体系为例)。

Reagent	Volume
10X Reaction Buffer	2.5μl
Ultrapure water	(16.5-x) μl
Substrate (IgG)	xμl (up to 10μg)
IdeZ Protease (10U/μl)	1μl (10 units)
Total Volume	25μl

注1: 建议最后添加IdeZ Protease。

注2: 酶切不同物种的IgG, 建议适当摸索最佳孵育时间和酶浓度。对于小鼠IgG2a和IgG3的酶切, 建议增加酶量(建议5倍至10倍作为起点)或延长反应孵育时间(2小时至过夜)以实现充分酶切。

注3: 如需减少酶量, 建议使用本产品提供的IdeZ Protease Dilution Buffer对IdeZ Protease进行稀释, 稀释过程中请勿使用Vortex剧烈振荡, 以免蛋白变性而失活。

注4: 在使用pH6-8范围以外的缓冲液(例如醋酸盐缓冲液)时, 孵育时间和酶量需要根据实际情况进行优化。

3. 用移液器轻轻吹打混匀或轻微Vortex混匀, 随后低速离心以使粘附在管壁上的液体聚集于管底。
4. 反应条件: 37°C孵育30-60分钟。
5. 终止反应: 65°C孵育10分钟。
6. 将反应后的产物进行变性或非变性PAGE凝胶电泳, 考马斯亮蓝染色后拍照观察并分析酶切效果。
7. 其它用途请自行参考IdeZ Protease的相关文献资料进行。

常见问题:

1. 与IdeS Protease相比, IdeZ Protease的优势是什么?

IdeZ Protease与IdeS Protease具有相同的特异性, 两者都是在IgG铰链区域下方完全相同的单个位点进行切割。但IdeZ Protease的酶切效率高于IdeS Protease, 能够更有效地切割小鼠IgG2a。因此, IdeZ Protease比IdeS Protease更通用。

2. IdeZ Protease在磷酸盐缓冲液(PBS)中具有活性吗?

是的, IdeZ Protease在磷酸盐缓冲液(PBS)中具有活性。IdeZ Protease能够在pH范围为6-9的缓冲体系中发挥酶切活性, 但是在pH5.5以下, 其活性显著降低。推荐使用本产品提供的10X Reaction Buffer进行酶切反应。

3. IgG经IdeZ Protease酶切后, 能否使用Protein A磁珠或Protein A Agarose纯化富集Fab和Fc片段?

可以。在用IdeZ Protease切割后, 可使用protein A磁珠或Protein A Agarose富集Fc和Fab片段。Fc片段会与磁珠或Agarose结合, Fab片段仍保留在上清中。注明仅和Fc片段结合的Protein G磁珠或Protein G Agarose, 也可用于分离Fc和Fab片段。

4. IdeZ Protease能否切割除人以外其他物种的IgGs?

IdeZ Protease可有效切割人、人源化、嵌合、绵羊、兔、大鼠和猴IgG; 延长孵育时间也可切割小鼠IgG2a和IgG3; 还可以切割许多Fc融合蛋白以及抗体药物偶联物(ADC)。但IdeZ Protease不可用于切割山羊、牛、猪IgG, 以及小鼠IgG1或IgG2b。

5. IdeZ Protease能否切割除IgG以外的其它类型Ig?

不能, IdeZ Protease仅能有效切割IgG, 对于IgA、IgD、IgE或IgM没有切割活性。

6. IdeZ Protease对IgG的特异性切割位点是什么?

IdeZ Protease对人和小鼠的特异性识别与切割位点如下表所示:

Subclass	Hinge/CH2 sequence	IdeZ Activity
Human IgG1	CPPCPPELLG^GPSVF	+++
Human IgG2	CPPCPAPP_VA^GPSVF	+++
Human IgG3	CPRCPPELLG^GPSVF	+++

Human IgG4	AHHAQAPEFLG^GPSVF	+++
Mouse IgG1	PCICTVPEV_SSVF	-
Mouse IgG2a	CPPCAAPNLLG^GPSVF	+++
Mouse IgG2b	CHKCPAPNLEGGPSVF	-
Mouse IgG3	GSSCPAGNILG^GPSVF	+++

7. 在同一反应体系中，PNGase F能否和IdeZ Protease一起使用，以便对抗体的Fc部分进行去糖基化？
可以。PNGase F可以与IdeZ Protease在同一个步骤中一起使用，实现对IgG的酶切片段化，同时去除Fc上的聚糖。推荐使用碧云天生产的PNGase F (P2318)对抗体进行去糖基化处理。

参考文献：

1. Lannergård J, Guss B. FEMS Microbiol Lett. 2006. 262(2):230-5.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2302	PreScission Protease	100U
P2303	PreScission Protease	500U
P2307	TEV Protease (His-tag)	1000U
P2308	TEV Protease (His-tag)	10000U
P2310S	TEV Protease (GST/His-tag)	1000U
P2310M	TEV Protease (GST/His-tag)	10000U
P2312S	SUMO Protease	200U
P2312M	SUMO Protease	1000U
P2312L	SUMO Protease	5000U
P2313-500U	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	500U
P2313-2KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	2KU
P2313-10KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	10KU
P2313-50KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	50KU
P2314-500U	重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)	500U
P2314-2KU	重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)	2KU
P2314-10KU	重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)	10KU
P2320-200µg	2019-nCoV Main Protease (新型冠状病毒主蛋白酶)	200µg
P2320-1mg	2019-nCoV Main Protease (新型冠状病毒主蛋白酶)	1mg
P2520-10µg	Recombinant Active Human BACE1 (His-Tag)	10µg
P2520-100µg	Recombinant Active Human BACE1 (His-Tag)	100µg
P2520-1mg	Recombinant Active Human BACE1 (His-Tag)	1mg
P2526S	IdeZ Protease (IgG-specific)	1KU
P2526M	IdeZ Protease (IgG-specific)	5KU
P2526L	IdeZ Protease (IgG-specific)	20KU
P2528S	IdeZ Protease (IgG-specific, Powder)	1KU
P2528M	IdeZ Protease (IgG-specific, Powder)	5KU
P2528L	IdeZ Protease (IgG-specific, Powder)	20KU
P4201-100mg	重组人胰蛋白酶	100mg
P4201-1g	重组人胰蛋白酶	1g
P4205-10mg	重组猪胰蛋白酶	10mg
P4205-100mg	重组猪胰蛋白酶	100mg
P4209-100µg	测序级重组胰蛋白酶	100µg
P4221-1mg	重组羧肽酶B	1mg
P4221-10mg	重组羧肽酶B	10mg
P4225-100µg	测序级重组羧肽酶B	100µg
P4225-1mg	测序级重组羧肽酶B	1mg
P4229-50µg	重组Kex2蛋白酶	50µg
P4233-1mg	重组抑肽酶	1mg
P4233-10mg	重组抑肽酶	10mg

P4237-100U	重组肠激酶	100U
P4237-500U	重组肠激酶	500U
P4237-1000U	重组肠激酶	1000U
P2318S	PNGase F去糖基化试剂盒	25次
P2318M	PNGase F去糖基化试剂盒	100次
P2318L	PNGase F去糖基化试剂盒	500次

Version 2023.03.06