



产品使用说明书

# Rhinogen<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> FabCOUPER protease 包装规格如下:

目录号	规格	浓度
QIP-009	1000U	20U/ $\mu$ l

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 $\times$ CaCl <sub>2</sub>	200mM CaCl <sub>2</sub> , pH7.6

**产品来源** FabCOUPER protease 序列来自 *Bdellovibrio bacteriovorus*, 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 CaCl<sub>2</sub>, pH7.6 条件下, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 小时, 1 单位酶 (1U) 可消化 1 $\mu$ g 人 IgG1 的  $\geq$ 90%, 通过 SDS-PAGE 确认。

**保藏条件** 冷藏运输, 到达时应储存在 -70 $^{\circ}$ C~ -20 $^{\circ}$ 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 是一种来自 *Bdellovibrio bacteriovorus* 的丝氨酸蛋白酶，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 至 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×CaCl<sub>2</sub> 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 CaCl<sub>2</sub>;
- 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×CaCl<sub>2</sub>, 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 CaCl<sub>2</sub> 浓度应为 10mM。如果调整了反应体积, CaCl<sub>2</sub> 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](mailto: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](http://www.rhinobio.com)  
电 话: 0512-87663137  
邮 箱: [techserv@rhinobio.com](mailto:techserv@rhinobio.com)



公众号



联系客服

