



High Papain Agarose Beads 6FF

货号: QS01093

一、产品描述

High Papain Agarose Beads 6FF由半胱氨酸-肽链内切酶（木瓜蛋白酶）组成，该酶固定在微珠状琼脂糖树脂上，用于从抗体中生成和纯化 Fab 片段。

木瓜蛋白酶是一种从木瓜蛋白酶乳胶中分离的非特异性半胱氨酸肽链内切酶，可用于广泛的应用。当在存在半胱氨酸的情况下将 IgG 分子与木瓜蛋白酶共孵育时，铰链区中的一个或多个肽键分裂，产生三个小片段：两个 Fab 片段和一个 Fc 片段。Fc 片段可通过固定化蛋白 A 或离子交换色谱与 Fab 片段分离。

High Papain Agarose Beads 6FF可以在几乎任何应用中代替游离木瓜蛋白酶，且具有优势，因为它几乎无需自溶、消除了蛋白酶样品的污染，还可以通过去除木瓜蛋白酶或控制样品流过High Papain Agarose Beads 6FF来控制酶切。High Papain Agarose Beads 6FF还能够更加稳定地抵抗热诱导的变性，从而延长活性维持时间。

表1 High Papain Agarose Beads 6FF 产品性质

基质	6%高流速琼脂糖
配基	Papain (木瓜蛋白酶)
粒径	45-165 μm
配基偶联密度	4-5mg/mL 基质
酶解能力	> 50 mg IgG/mL 基质
耐受压力	0.3 Mpa
储存缓冲液	50% 甘油、0.1M MES (pH 值为 4.5)

二、使用说明:

1、IgG 水解生成 Fab 片段的操作流程

本操作流程适用于消化多克隆鼠源性和人源性 IgG。当尝试消化非鼠或非人物种的 IgG 时，可能需要进行优化。文献中报道了用非固定化和固定化胰蛋白酶消化不同 IgG 类型的情况。某些 IgG 类型，如兔源性 IgG，难以消化，需要的酶与底物的比例（酶：底物，1:10 w/w），而其他 IgG 类型，如大鼠源性 IgG，容易被这种酶变性，需要较少的酶或更短的消化时间。

2、需要的额外材料



- 试管或其他反应容器
- 样品缓冲液：20mM 磷酸钠，10mM EDTA；pH 7.0
- 酶解缓冲液：20mM 磷酸钠，20mM Cysteine•HCl，10mM EDTA；pH 7.0
- 10mM Tris-HCl，pH 7.5

3、准备工作

- 1) 如果 IgG 已经纯化并冻干，那么继续进行步骤2。如果 IgG 仍处于溶液状态，则用样品缓冲液进行透析。将 IgG 浓缩至约 20mg/mL 的浓度。浓度较低时，需要更高的酶与底物的比例或更长的酶解时间。
- 2) 使用前，先准备好酶解缓冲液。将Cysteine•HCl加入到酶解缓冲液中，使其最终浓度达到 20mM，并将 pH 调整至 7.0。
- 3) 通过倒置或轻轻摇晃的方式混合High Papain Agarose Beads 6FF，以获得均匀的悬浮液。向一个玻璃试管或其他合适的反应容器中加入 0.5 毫升 50%的High Papain Agarose Beads 6FF。为确保胶浆的正确分配，请使用细长的或切割过的移液管尖端。
- 4) 为了使凝胶达到平衡状态，向凝胶浆中加入 4.0 毫升酶解缓冲液。用树脂分离器或离心法将凝胶与缓冲液分离。再用另外 4.0 毫升缓冲液重复上述洗涤步骤。将两次洗涤液一并丢弃。
- 5) 将凝胶重新悬浮于 0.5 毫升的酶解缓冲液中。

4、片段生成

1. 将不超过 10 毫克的纯冻干 IgG 溶解于 1.0 毫升的酶解缓冲液中，或者将 0.5 毫升已配制好的样品加入到 0.5 毫升的酶解缓冲液中。
2. 将 1.0 毫升样品加入装有High Papain Agarose Beads 6FF的试管或容器中。
3. 在 37°C 的水浴振荡器中高速振荡孵育 5 小时至过夜。孵育期间保持凝胶持续搅拌。对于人免疫球蛋白 G (IgG)，使用相同条件孵育 4 小时。
4. 如果通过离心法将High Papain Agarose Beads 6FF与消化产物分离，可在离心前向消化产物中加入 1.5 毫升 10mM 的 Tris•HCl 缓冲液 (pH 7.5)，然后去除上清液，该上清液中含有 IgG 片段。如果使用树脂分离器，则将消化产物与High Papain Agarose Beads 6FF分离，然后用上述相同的 Tris 缓冲液洗涤酶，并将洗涤液与酶解产物合并。
5. Fab 片段可以通过使用固定化蛋白 A 柱或离子交换层析法从未酶解的 IgG 和 Fc 片段中分离出来。

附加信息

表 1. 文献报道的非固定化和固定化木瓜蛋白酶对不同 IgG 类型酶解作用的结果。



Species IgG	Digestion Method	Purification Method
Human		
Monoclonal IgG ₁	Papain	DEAE Cellulose
Polyclonal IgG	Crystalline Papain, Papain	DEAE Cellulose, Protein A
Anti- <i>Schistosoma mansoni</i> soluble egg antigens Cohn fraction II	Immobilized Papain	Immobilized Antigen
	Mercuripapain	DEAE
Mouse		
IgG _{2a} from myeloma	Papain	Protein A
Polyclonal IgG	Crystalline Papain, Papain, Mercuripapain	DEAE, Protein A
Rat		
Monoclonal IgG ₁ , IgG _{2a} , IgG _{2b}	Mercuripapain	DEAE
Polyclonal IgG	Papain	DEAE
Polyclonal IgG subclasses	Papain	DEAE Cellulose or Protein A
IgG subclasses	Papain or Mercuripapain	Electrophoresis used to monitor digestion
Rabbit		
Polyclonal IgG	Immobilized Papain, Crystalline Papain, Mercuripapain	Protein A, CM Cellulose
Sheep		
Antidigoxin	Crystalline Papain	gel filtration, affinity chromatography
Polyclonal IgG	Crystalline Papain	DEAE Cellulose
Goat		
	Crystalline Papain, Papain, Mercuripapain	DEAE, Protein A, ion exchange
Horse, Cow, Guinea Pig, Chicken		
	Crystalline Papain	DEAE

三、相关产品

产品名称	货号
ECH Agarose Beads 4FF	QS01029
EAH Agarose Beads 4FF	QS01041
Heparin Agarose Beads 6FF	QS01040
Streptavidin Agarose Beads 6FF	QS01014
Streptactin XT Agarose Beads 6FF	QS01031
Streptactin Agarose Beads 4FF	QS01015
Dextrin Agarose Beads 4FF	QS01013
Glutathione Agarose Beads 4FF	QS01012
rProtein A/G Agarose Resins 4FF	QS01011