

バイオ医薬研究用 酵素・試薬キット

# SmartEnzymes™ Genovis AB

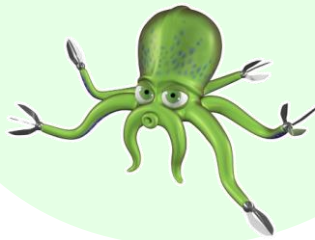
Genovis社は、抗体医薬研究用のバイオ医薬プロセス酵素SmartEnzymes™を開発・製造しているスウェーデン（ルンド）のメーカーです。

Genovis社は、モノクローナル抗体、ADCs (antibody drug conjugates)、Fc融合タンパク質、バイオシミラー等のバイオ医薬品の研究開発に使用できるユニークな酵素（プロテアーゼ、グリコシラーゼ）、試薬キットをラインアップしています。

## IgG Proteases



## Site-specific endopeptidase



## O-Glycan elimination



## IgG Glycosidases



## Site-specific Antibody conjugation



## Line up & Index

### IgG Proteases

- FabRICATOR® (IdeS)**: IgGヒンジ領域直下を切断するプロテアーゼ。F(ab')<sub>2</sub>とFcの調製に最適。 ……p.3
- FragIT™**: FabRICATOR®(IdeS)固定化ビーズ充填スピカラム。F(ab')<sub>2</sub>とFcを簡便に精製。 ……p.3
- FabRICATOR® (IdeZ)**: FabRICATOR®(IdeS)のホモログプロテアーゼ。 ……p.4  
マウスIgG2aのヒンジ領域直下を認識する活性が向上。F(ab')<sub>2</sub>とFcを2時間で生成。
- FabULOUS® (SpeB)**: 多種IgGのヒンジ領域上部を認識するプロテアーゼ。 ……p.5  
1-5mM DTT、TCEP存在下の中性条件で反応。
- GingisKHAN® (KGP)**: ヒトIgG1 ヒンジ領域上部 K223-T224を認識するプロテアーゼ。 ……p.6  
2 mM Cysteine存在下の中性条件で反応し、インタクトなFabとFcを調製可能。
- FabALACTICA™**: ヒトIgG1のヒンジ領域上部 (KSCDKT / HTCPCP) を認識するプロテアーゼ。 ……p.7  
中性条件で還元剤およびコファクターなしで反応し、インタクトなFabとFcを調製可能。

### IgG Glycosidases

- GlycINATOR® (EndoS2)**: Fc領域の糖鎖除去に使用。(コアGlcNAcは残存) ……p.8
- Immobilized GlycINATOR®**: GlycINATOR®固定化ビーズ充填スピカラム。 ……p.8
- IgGZERO® (EndoS)**: Fc領域の糖鎖除去に使用。血清存在下でも使用可能。(コアGlcNAcは残存) ……p.9
- deGlycIT™ (Immobilized IgGZERO®)**: IgGZERO®固定化ビーズ充填スピカラム。 ……p.9

### Site-specific endopeptidase

- GingisREX™**: アルギニンC末端側を特異的に認識・切断するプロテアーゼ。 ……p.10
- Lysyl Endopeptidase®**: リジンC末端側を特異的に認識・切断するプロテアーゼ。 ……p.20  
抗体医薬品質管理のワールドスタンダード。

### Site-specific Antibody conjugation

- GlyCLICK™**: Fcグライカンリモデリング反応とクリックケミストリーにより、Fc領域の特定部位に目的分子 (Alexa Fluor® 488, ビオチン, deferoxamine (DFO), Azide活性化) を修飾。 ……p.11-p.12

### O-Glycan elimination

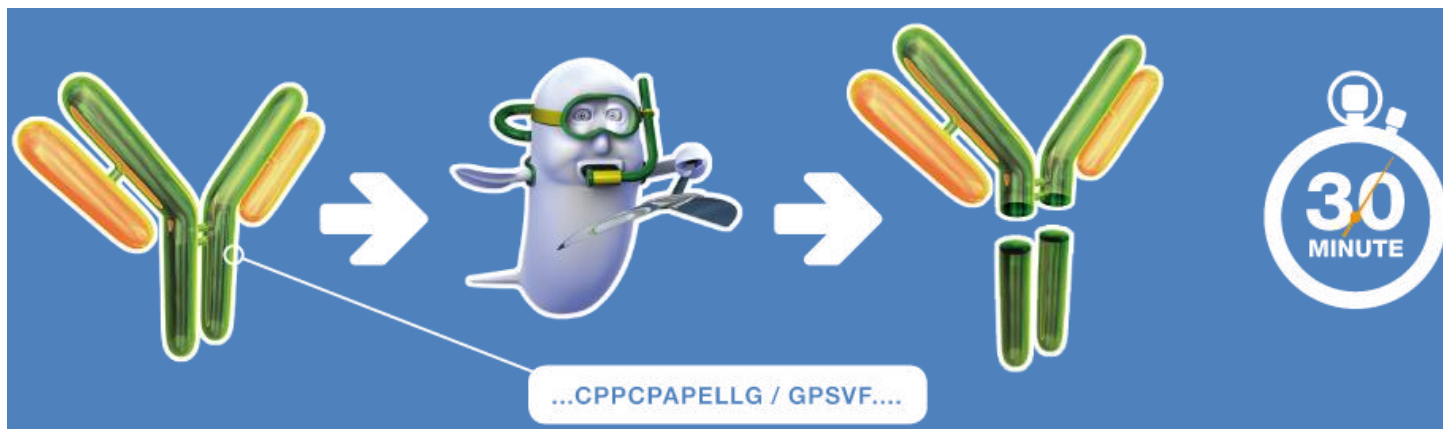
- OglyZOR™**: 糖タンパク質からコア1、コア3 O結合型糖鎖を除去するエンドグリコシラーゼ。 ……p.13
- OperATOR™**: 糖タンパク質のO結合型糖鎖修飾部位のセリンまたはスレオニンのN末端を認識するプロテアーゼ。N結合型糖鎖には作用しない。 ……p.14
- SialEXO™**: O結合型、N結合型糖タンパク質からシアル酸を除去するシアリダーゼ。 ……p.15  
α2-3、α2-6またはα2-8結合を認識。
- GlycOCATCH™**: O結合型糖鎖修飾タンパク質、ペプチドの精製用スピカラム。 ……p.16

### Bio-pharma research products

- KANEKA KanCapA™** ……p.17
- Ni-NTAカートリッジ、Ni-アガロース** ……p.18
- ハイブリドーマ用無血清培地** ……p.19
- Lysyl Endopeptidase** ……p.20

# FabRICATOR®

IgGヒンジ領域直下を切断するプロテアーゼ。F(ab')<sub>2</sub>とFcの調製に最適。

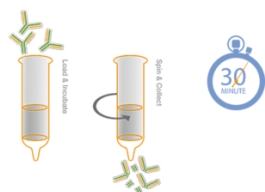


- ▶ 抗体のヒンジ領域直下を切断（過剰分解なし）
- ▶ プロトコルを最適化済み
- ▶ 幅広い生物種のIgGに適用
- ▶ IgG切断反応が約30分で完了
- ▶ FabRICATOR® (IdeS) 固定化ビーズ、スピンカラムもラインアップ



	FabRICATOR®
Species & Subclasses	Native IgG
Human IgG1	..CPAPPELLG / GPSVF..
Human IgG2	..CPAPPVA / GPSVF..
Human IgG3	..CPAPPELLG / GPSVF..
Human IgG4	..CPAPPELLG / GPSVF..
Mouse IgG1	X
Mouse IgG2a	..CPAPNLLG / GPSVF..
Mouse IgG2b	X
Mouse IgG3	..CPPGNILG / GPSVF..
Rat IgG2b	..CPVPPELLG / GPSVF..
Rhesus Monkey	..CPAPPELLG / GPSVF..
Rabbit	..CPPPELLG / GPSVF..

X = no digestion confirmed

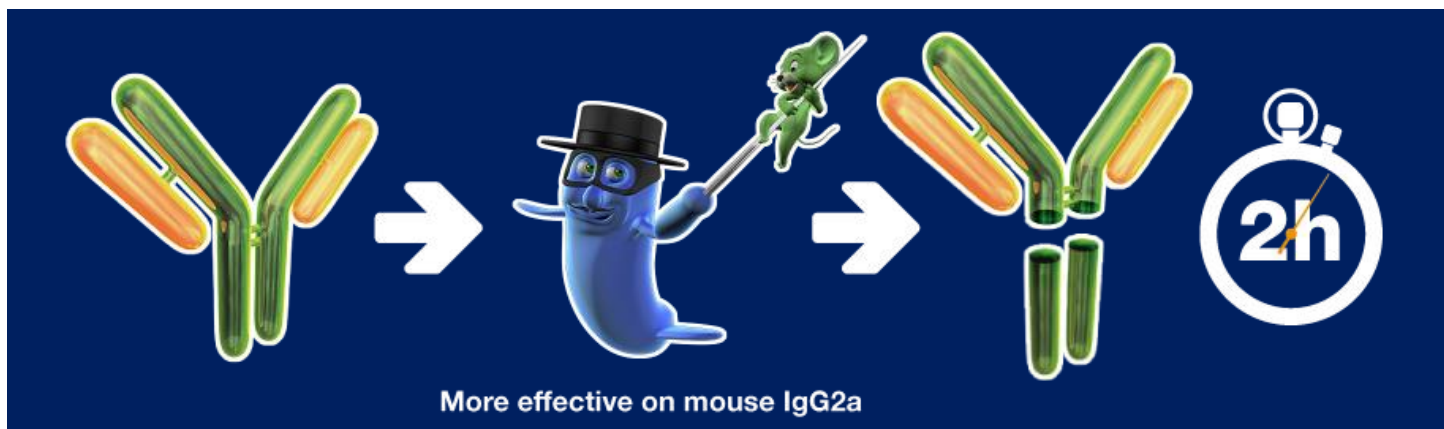


## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品	容量	希望納入価格 (円)
A0-FR1-020	<b>F</b> FabRICATOR® (IdeS) Enzyme 8連チューブ、96ウェルタイプもラインアップ 	2,000 Units	94,300
A0-FR1-050		5,000 Units	182,900
A0-FR1-250		5 x 5,000 Units	734,900
A0-FR1-008		8 x 100 Units	64,400
A0-FR1-096		96 x 100 Units	379,500
A0-FR6-010	<b>Ref</b> FragIT™ – Immobilized FabRICATOR® FabRICATOR® (IdeS)固定化ビーズ充填スピンカラム 	2 x 0.5 mg	70,200
A0-FR6-025		5 x 0.5 mg	159,900
A0-FR6-050		10 x 0.5 mg	264,500
A0-FR6-100		1 - 10 mg	212,800
A0-FR6-1000		10 - 100 mg	634,800
A2-FR2-005	<b>Ref</b> FragIT™ Kit FabRICATOR® (IdeS)固定化ビーズカラムと消化抗体精製用試薬を含むキット 	0.5 mg	78,200
A2-FR2-025		5 x 0.5 mg	212,800
A2-FR2-100		10 mg	265,700
A2-FR2-1000	100 mg	797,000	
A0-FR8-020	<b>F</b> FabRICATOR® LE (Low Endotoxin)	2,000 Units	103,500
A0-FR8-050		5,000 Units	201,300
A0-FR4-060	<b>F</b> FabRICATOR® Validation Kit	3 x 2,000 Units	282,900
A3-AF1-010	<b>F</b> Anti-FabRICATOR®	0.1 mL	55,200

FabRICATOR® (IdeS)はHisタグを含んでいますので、抗体消化反応後にニッケルキレートレジンを除去できます。  
 FabRICATOR® (IdeS)は凍結乾燥品です。アジ化ナトリウム 0.02 - 0.05% (w/v)を含む滅菌水に溶解してご使用下さい。  
 ユニット定義：1ユニットは10mMリン酸ナトリウム、137mM NaCl、2.7mM KClと共にpH7.4、37°Cで30分間処理したとき、1µgのヒトIgGを95%以上切断します。  
 由来：FabRICATOR® (IdeS)はStreptococcus pyogenes由来でE. coliで発現させています。

# FabRICATOR® Z マウスIgG2aのヒンジ領域直下を認識する活性が向上。



- ▶ FabRICATOR® (IdeS) の特性をそのまま保持
- ▶ マウスIgG2aに対してはFabRICATOR® (IdeS) よりも高活性
- ▶ 幅広い生物種のIgGに適用
- ▶ IgG切断反応が約30分で完了
- ▶ FabRICATOR® (IdeZ) 固定化ビーズ、スピнкаラムもラインアップ



Species & Subclasses	FabRICATOR®
	Native IgG
Human IgG1	..CPAPELLG / GPSVF..
Human IgG2	..CPAPPVA / GPSVF..
Human IgG3	..CPAPELLG / GPSVF..
Human IgG4	..CPAPELLG / GPSVF..
Mouse IgG1	X
Mouse IgG2a	..CPAPNLLG / GPSVF..
Mouse IgG2b	X
Mouse IgG3	..CPPGNILG / GPSVF..
Rat IgG2b	..CPVPELLG / GPSVF..
Rhesus Monkey	..CPAPELLG / GPSVF..
Rabbit	..CPPPELLG / GPSVF..

X = No digestion confirmed

## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品	容量	希望納入価格 (円)
A0-FRZ-020	<b>F</b> FabRICATOR® Z Enzyme	2,000 Units	94,300
A0-FZ6-010	<b>Ref</b> FragIT™ Z – Immobilized FabRICATOR® Z FabRICATOR® (IdeZ)固定化ビーズ充填スピнкаラム	2 x 0.5 mg	70,200
A0-FZ6-025		5 x 0.5 mg	159,900
A0-FZ6-050		10 x 0.5 mg	264,500
A2-FZ2-005	<b>Ref</b> FragIT™ Z Kit FabRICATOR® (IdeZ)固定化ビーズカラムと 消化抗体精製用試薬を含むキット	0.5 mg	78,200
A2-FZ2-025		5 x 0.5 mg	212,800

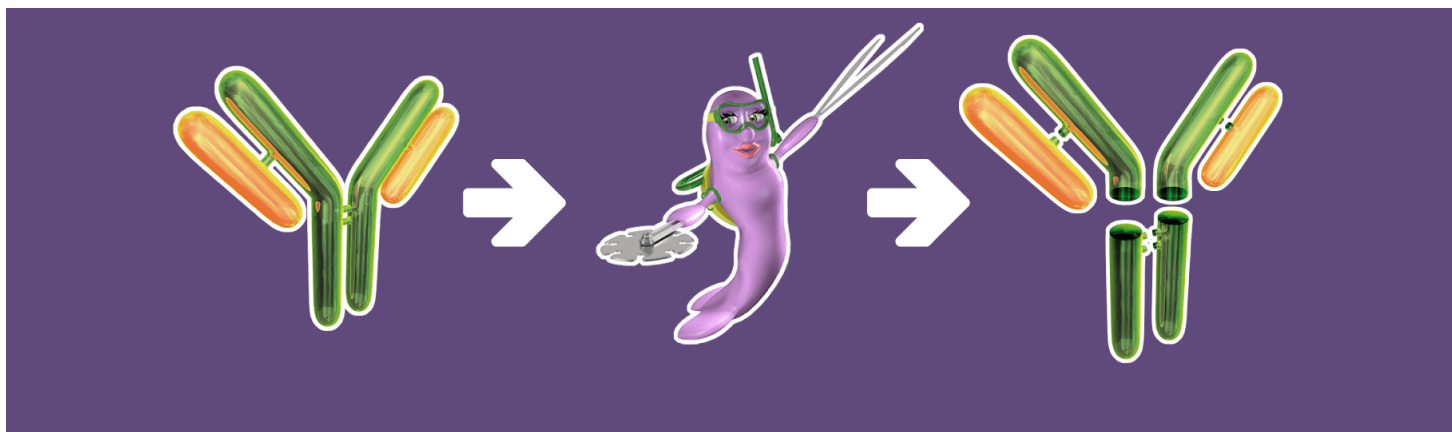
FabRICATOR® Z (IdeZ)はHisタグを含んでいますので、抗体消化反応後にニッケルキレートレジンを除去できます。  
 FabRICATOR® Z (IdeZ)は凍結乾燥品です。アジ化ナトリウム 0.02 - 0.05% (w/v)を含む滅菌水に溶解してご使用下さい。  
 ユニット定義：1ユニットは10mMリン酸ナトリウム、137mM NaCl、2.7mM KClと共にpH7.4、37°Cで2時間処理したとき、1µgのヒトIgGを95%以上切断します。  
 由来：FabRICATOR® Z (IdeZ) *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*and由来で、*E. coli*にて発現させています。

表1. 異なるpHにおけるFabRICATOR®による切断の互換性が試験されたバッファー

互換バッファー	pH	互換バッファー	pH
リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)	6.0 – 8.0	HEPES	7.0 – 8.0
Tris	7.0 – 8.0	炭酸水素アンモニウム	6.0 – 7.0
MES	5.5 – 6.5	酢酸ナトリウム	6.0

注：FabRICATOR®酵素はpH5.0以下で不可逆的に不活性化されます。pH8.0以上での酵素処理はより長い時間もしくは最適化された反応条件が必要となります。





- ▶ IgGヒンジ領域上部を特異的に切断
- ▶ 幅広い生物種のIgGに適用
- ▶ IgG切断反応が約60分で完了
- ▶ Fabフラグメント精製用のマウスL鎖-Kappa特異的カラムを含むキットもラインアップ



Species & Subclasses	FabULOUS®
	Digestion under reduced condition. * Primary digestion site.
Human IgG1	..KTHT / CPPCPAPA.*
Human IgG2	Yes (Site N.D.)
Human IgG3	Yes (Site N.D.)
Human IgG4	X
Mouse IgG1	..KPCIC / TVPEVS..
Mouse IgG2a	Yes (Site N.D.)
Mouse IgG2b	Yes (Site N.D.)
Mouse IgG3	Yes (Site N.D.)
Rat IgG2b	Yes (Several sites)
Rhesus Monkey	N.D.
Rabbit	..KPT / CPPPE.*
X = No digestion confirmed	
N.D. = Not determined	

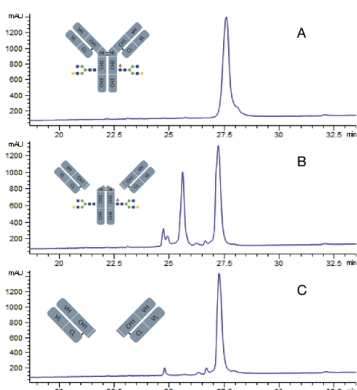


図1. A) インタクトなモノクローナルマウスIgG1抗体  
B) FabULOUS Fab kit で処理後の断片解析結果  
C) CaptureSelect™ LC-Kappa column から溶出されたFab断片。  
酵素処理及び精製物の分析はWaters社 Acquity UPLC® BEH300 C4 を用いRP-HPLC (Agilent社 1290)で行いました。

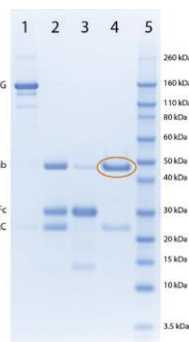


図2. FabULOUS Fab kitを使用したモノクローナルマウスIgGの精製されたFab断片の非還元SDS-PAGE解析結果  
レーン1: インタクトなマウスIgG1  
レーン2: 切断されたマウスIgG1  
レーン3: CaptureSelect™ カラムの通過画分  
レーン4: 溶出されたFab断片  
レーン5: 分子量マーカー

## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品		容量	希望納入価格 (円)
A0-PU1-020		FabULOUS® Enzyme	2,000 Units	94,300
A1-PFK-020	FabULOUS® (SpeB)	 FabULOUS® Fab kit FabULOUS® (SpeB)とFabフラグメント精製用のマウスL鎖-Kappa特異的カラムを含むキット	2,000 Units	159,900

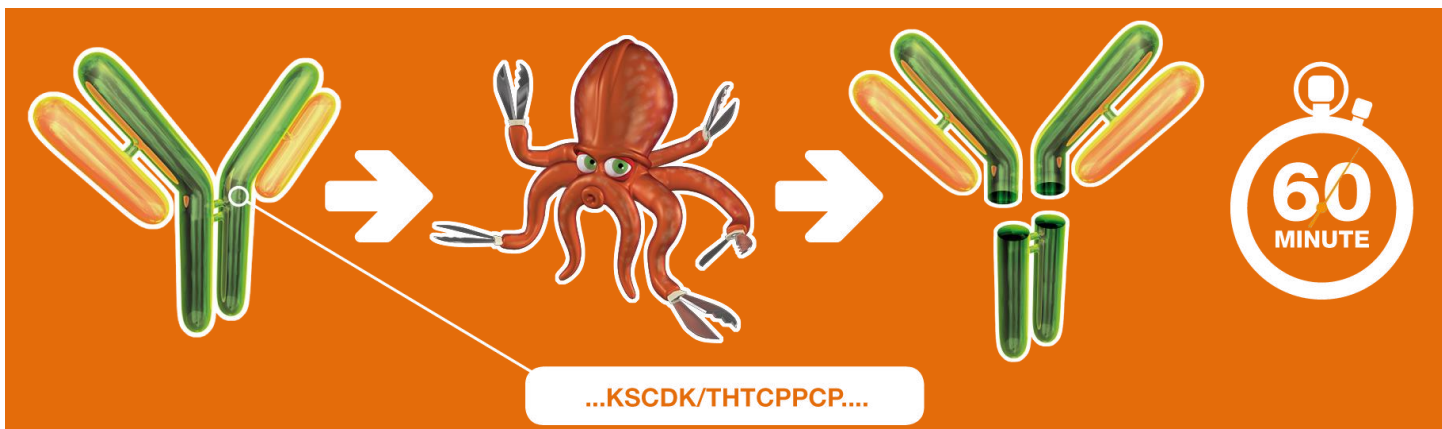
FabULOUS® (SpeB)はHisタグを含んでいますので、抗体消化反応後にニッケルキレートレジンを除去できます。  
FabULOUS® (SpeB)は凍結乾燥品です。プロトコルに記載されている量の滅菌水に溶解してご使用下さい。  
ユニット定義: 1ユニットのFabULOUS®は説明書に記載の通りの条件で1µgのIgGを切断します。  
由来: FabULOUS® (SpeB)はStreptococcus pyogenes由来で、E. coliで発現しています。

表1. 異なるpHにおけるFabULOUS®による切断の互換性が試験されたバッファー

互換バッファー	pH
リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)	6.5 - 8.0
Tris	7.0 - 8.0
酢酸ナトリウム	6.5 *

表2. FabULOUS® で試験された還元剤

還元剤	濃度 (mM)	pH	還元剤	濃度 (mM)	pH
DTT	1-5	6.5 - 8.0	システアミン	50-100	6.5 - 8.0
TCEP	1-5	6.5 - 8.0	2-メルカプトエタノール	50-100	6.5 - 8.0
システイン	50-100	6.5 - 8.0			



- ▶ ヒトIgG1のヒンジ領域上部を特異的に切断
- ▶ 反応試薬がオールインワン
- ▶ IgG切断反応が約60分で完了
- ▶ Fabフラグメント精製用のCH1特異的カラムを含むキットもラインアップ



Species & Subclasses	GingisKHAN® Native IgG
Human IgG1	..KSCDK / THTCPPCP..
Human IgG2	X
Human IgG3	Multiple sites in Fc
Human IgG4	X
Mouse IgG1	X
Mouse IgG2a	X
Mouse IgG2b	X
Mouse IgG3	X
Rat IgG2b	N.D.
Rhesus Monkey	N.D.
Rabbit	N.D.
X = No digestion confirmed	
N.D. = Not determined	

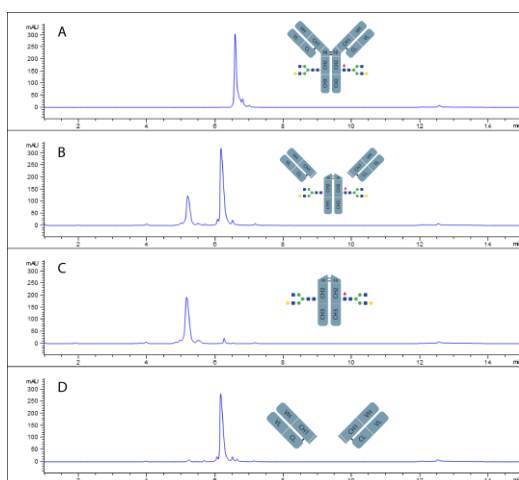


図1. GingisKHAN FabKitを用いたFab断片の切断と精製結果  
(A) インタクナモノクローナルIgG抗体。(B) GingisKHAN処理後の抗体断片の解析結果。(C) CH1特異的CaptureSelectカラムに処理液が添加され、通過したFc断片が示されている。(D) 精製されたFab断片の溶出。  
切断と精製された抗体はSupelco社 C4 bioshell A4を用いてRP-UHPLC (Agilent社 1260)により分析しました。

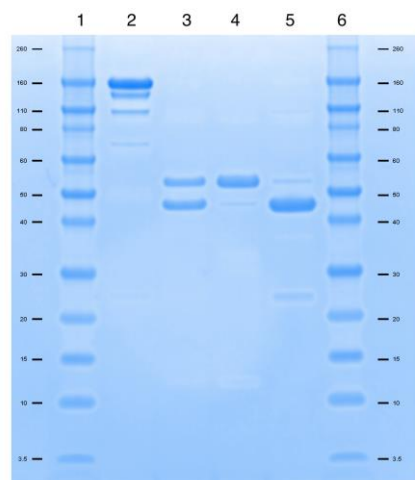


図2. GingisKHAN Fab kitを用いたモノクローナルヒトIgG1ハーセプチンの精製Fab断片のSDS-PAGE解析結果  
レーン1及び6：分子量マーカー、レーン2：インタクナヒトIgG、レーン3：GingisKHAN処理後のFab及びFc断片、レーン4：通過したFc断片及びGingisKHAN、レーン5：溶出されたFab断片。

## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品	容量	希望納入価格 (円)
B0-GKH-020	GingisKHAN® Enzyme	2,000 Units	94,300
B0-GFK-020	GingisKHAN® Fab kit GingisKHAN® (KGP)とFabフラグメント精製用のCH1特異的カラムを含むキット	2,000 units	212,800

ユニット定義：1ユニットは0.1M Trisを用い、pH8.0、37°Cで1時間反応させた際に1μgのヒトIgG1を95%以上切断します。  
由来：Porphyromonas gingivalisから精製。

# FabALACTICA™

ヒトIgG1のヒンジ領域上部(KSCDKT / HTCPCP)を認識するプロテアーゼ。



- ▶ ヒトIgG1のヒンジ領域上部を特異的に切断
- ▶ 中性条件下での反応（還元剤不要）によりインタクトなFabとFcを調製可能

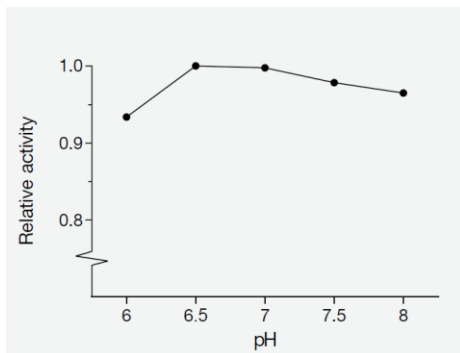
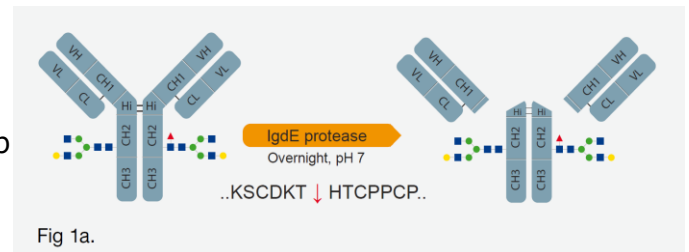


Fig 1b.

最適な切断条件は150mM NaP、0-150mM塩化ナトリウム、37℃、pH6.5-8でみられました。

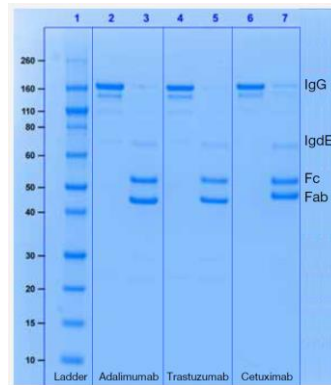


Fig 1c.

モノクローナルヒトIgG1抗体アダルIMUMAB、トラスツズマブ、セツキシマブをE:S比1:10、150mM NaP、pH7.0、37℃で一晩、精製IgdEプロテアーゼを用いて処理しました。処理物は非還元SDS-PAGE (Fig. 1c) 及びRP-HPLC (Fig. 1d) で分析した。HPLCはWaters社 Acquity UPLC® BEH300 C4, 1.7 μm, 2.1x100 mmを用い、アセトニトリル/イソプロパノールのグラジエント溶離液を用い60℃でAgilent社 1260を使用して行われました。

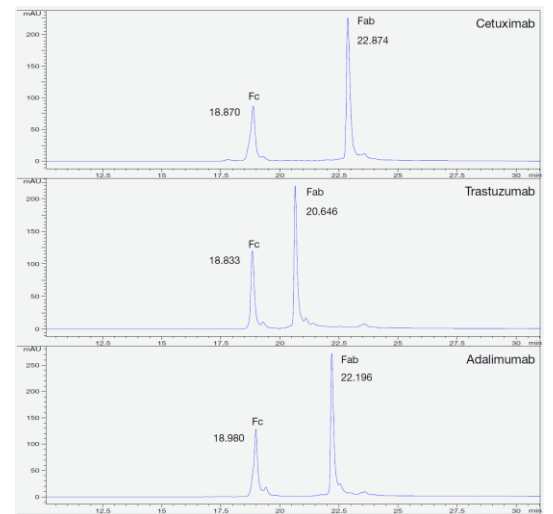


Fig 1d.

## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品	容量	希望納入価格 (円)
A0-AG1-020	F <sup>o</sup> FabALACTICA™	2,000 units	110,400

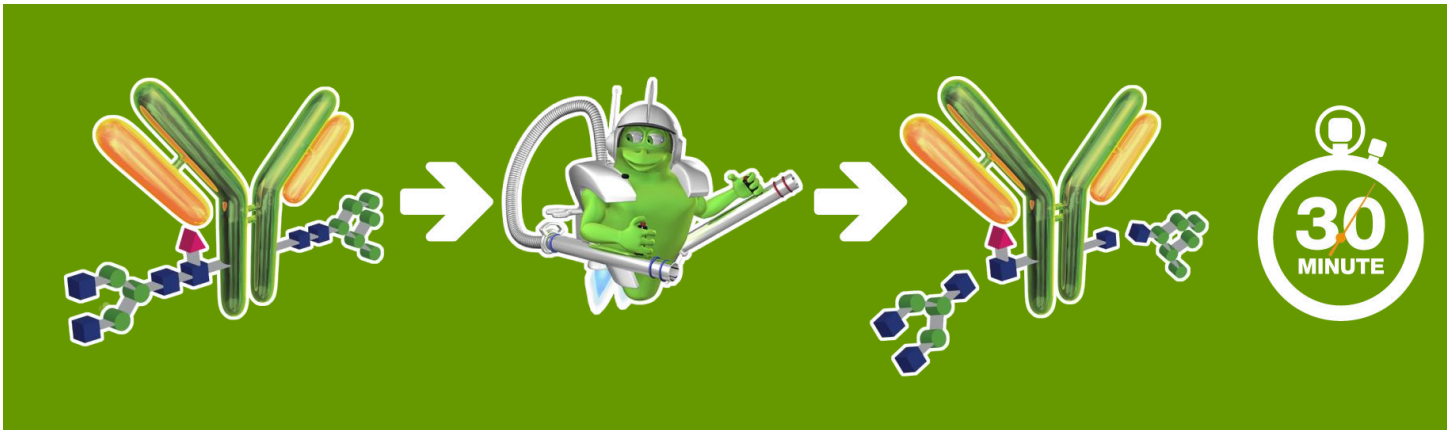
FabALACTICA™ (IgdE)はHisタグを含んでいますので、抗体消化反応後にニッケルキレートレジンを除去できます。FabALACTICA™ (IgdE)は凍結乾燥品です。プロトコールに記載されている量の滅菌水に溶解してご使用下さい。ユニット定義：1ユニットは150mM Sodium phosphate, pH7.0、37℃で一晩（16-18時間）処理した際、1μgのヒトIgG1を90%以上切断します。由来：FabALACTICA™は*Streptococcus agalactiae*由来で、*E. coli*で発現しています。



# GlycINATOR®

Immobilized  
**GlycINATOR®**

Fc領域の糖鎖除去に使用。



- ▶ IgG特異的エンドグリコシラーゼ
- ▶ Fc領域に付加されている糖鎖を加水分解
- ▶ ネイティブIgGの糖鎖除去にも使用可能
- ▶ コアGlcNAcはFc領域に残存
- ▶ ヒトIgG サブクラスおよびその他生物種由来 IgG (mouse, rat, monkey, sheep, goat, cow, horse) に使用可能
- ▶ GlycINATOR®固定化ビーズを充填したスピнкаラムと GlycINATOR® LE (低エンドトキシン) もラインアップ



Immobilized GlycINATOR®  
Deglycosylates 0.5 mg



Immobilized GlycINATOR® MidiSpin  
Deglycosylates 1-10 mg



Immobilized GlycINATOR® Maxispin  
Deglycosylates 10-100 mg



## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品	容量	希望納入価格(円)
A0-GL1-020	<b>F</b> GlycINATOR® (EndoS2)	2,000 Units	94,300
A0-GL6-010	<b>R</b> Immobilized GlycINATOR® GlycINATOR®固定化ビーズを充填した スピнкаラム	2 x 0.5 mg	70,200
A0-GL6-025		5 x 0.5 mg	159,900
A0-GL6-050		10 x 0.5 mg	264,500
A0-GL6-100		1-10 mg	212,800
A0-GL6-1000		10-100 mg	634,800
A0-GL8-020	<b>F</b> GlycINATOR® LE	2,000 Units	103,500

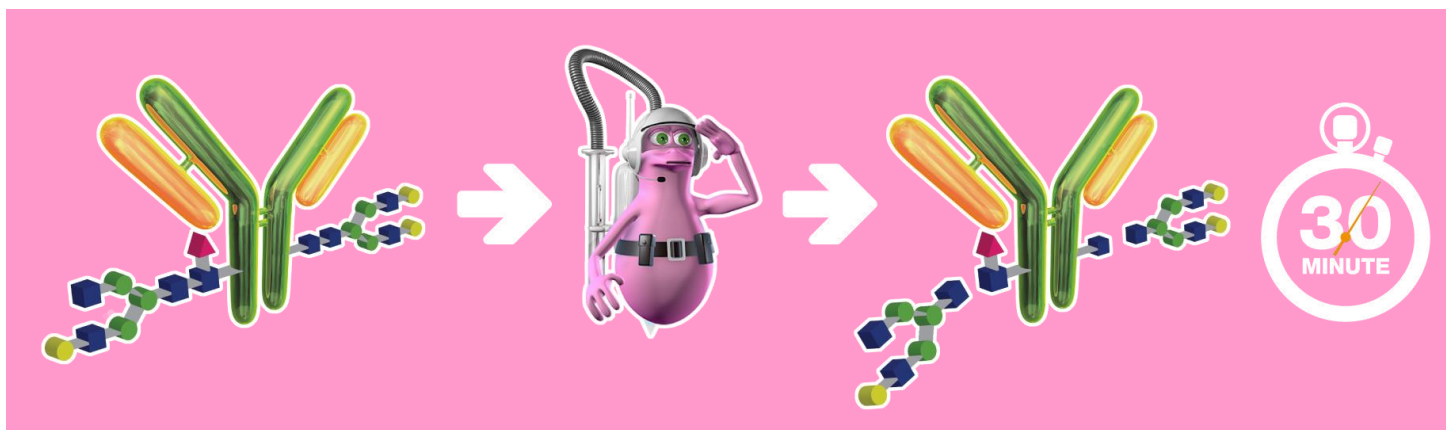
GlycINATOR® (EndoS2)はHisタグを含んでいますので、酵素反応後にニッケルキレートレジンで除去できます。  
 GlycINATOR® (EndoS2)は凍結乾燥品です。プロトコールに記載されている量の滅菌水に溶解してご使用下さい。  
 ユニット定義：1ユニットは10mM Sodium phosphate、150mM塩化ナトリウム中でpH7.4、37°Cで30分間処理した際1µgのIgGを95%以上切断します。  
 由来：GlycINATOR® (EndoS2)は*Streptococcus pyogenes*由来で、in *E. coli*で発現させています。  
 GlycINATOR® LE：GlycINATOR®はエンドトキシンの影響を受けやすい試験向けの凍結乾燥された酵素製品です。  
 本製品の処方バイアルごとにエンドトキシン濃度が低く(< 0.2 EU)されており、2,000 unit/vialの容量がご利用できます。



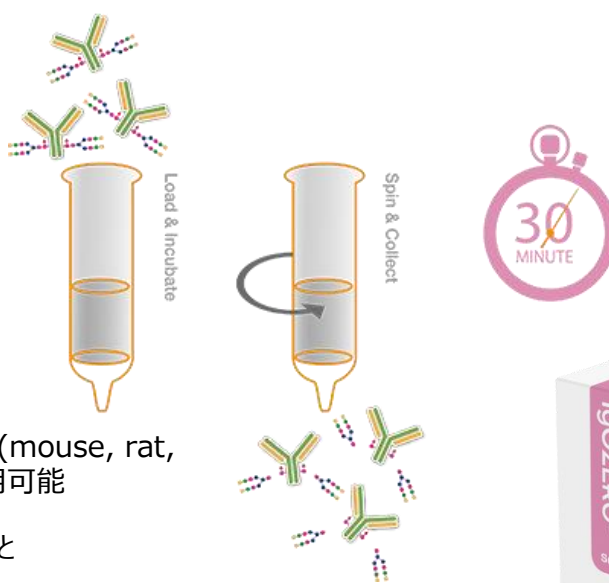
IgGZERO®

deGlycIT™

Fc領域の糖鎖除去に使用。



- ▶ IgG特異的エンドグリコシラーゼ
- ▶ Fc領域に付加されている糖鎖を加水分解
- ▶ ネイティブIgGの糖鎖除去にも使用可能
- ▶ 血清存在下で使用可能
- ▶ コアGlcNAcはFc領域に残存
- ▶ ヒトIgG サブクラスおよびその他生物種由来 IgG (mouse, rat, monkey, sheep, goat, cow, horse) に使用可能
- ▶ IgGZERO® 固定化ビーズを充填したスピнкаラムと IgGZERO® LE (低エンドトキシン) もラインアップ



注：IgGZERO® (EndoS)は、ハイマンノース型およびハイブリッド型糖鎖の除去活性が低いため、その際にはGlycINATOR® (EndoS2)の使用を推奨します。



deGlycIT™ MicroSpin,  
Deglycosylates 0.5 mg



deGlycIT™ MidiSpin  
Deglycosylates 1-10 mg



deGlycIT™ Maxispin  
Deglycosylates 10-100 mg

## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品	容量	希望納入価格 (円)
A0-IZ1-010	F <sup>o</sup> IgGZERO® Enzyme	1,000 Units	47,200
A0-IZ1-050		5,000 Units	190,900
A0-IZ6-010	Ref deGlycIT™ – Immobilized IgGZERO® IgGZERO® (EndoS)固定化ビーズを 充填したスピнкаラム	2 x 0.5 mg	70,200
A0-IZ6-025		5 x 0.5 mg	159,900
A0-IZ6-050		10 x 0.5 mg	264,500
A0-IZ6-100		1-10 mg	212,800
A0-IZ6-1000		10-100 mg	634,800
A0-IZ8-020	F <sup>o</sup> IgGZERO® LE	2,000 units	103,500

IgGZERO® (EndoS)はHisタグを含んでいますので、反応後にニッケルキレートレジンで除去できます。

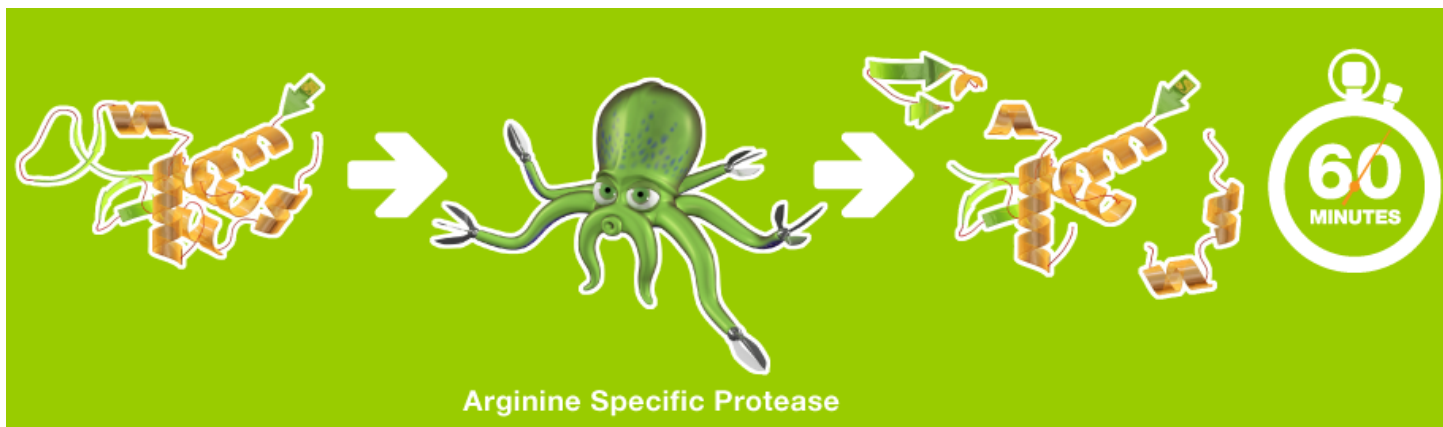
IgGZERO® (EndoS)は凍結乾燥品です。プロトコールに記載されている量の滅菌水に溶解してご使用下さい。

ユニット定義：1ユニットは10mM Sodium phosphate、150mM塩化ナトリウム中でpH7.4、37°Cで30分間処理した際1μgのヒトIgGの95%の糖鎖を除去します。

由来：IgGZERO® (EndoS)はStreptococcus pyogenes由来で、E. coliで発現されています。

IgGZERO® LE：IgGZERO®はエンドトキシンの影響を受けやすい試験向けの凍結乾燥された酵素製品です。

本製品の処方方はバイアルごとにエンドトキシン濃度が低く (< 0.2 EU) されており、2,000 unit/vialの容量がご利用できます。



Arginine Specific Protease

- ▶ Arg (R) のC末端を特異的に認識するアルギニンエンドペプチダーゼ
- ▶ Lys (K) のC末端は認識しない
- ▶ 従来のArg-Cでは認識できなかったArg-Proに反応可能
- ▶ 最適pH 5.0-9.0、6M 尿素および0.1% SDS存在下も使用可能

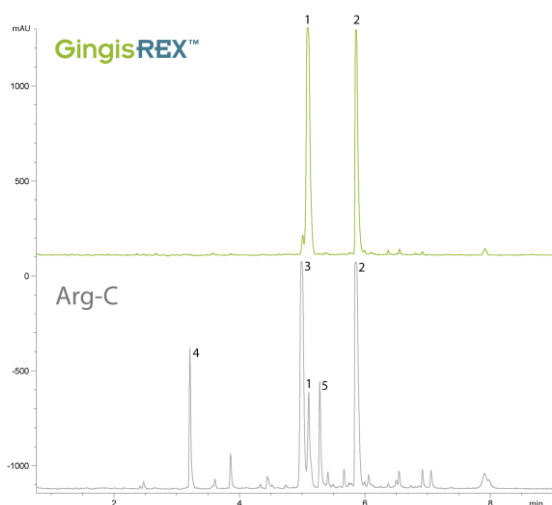


図1. 酸化型インスリンβ鎖のGingisREXとArg-Cを用いた切断を37°C、一晚、酵素、基質比率1:20 (w/w)、20mMシステインを含む酵素中でpH7.4 (GingisREX) またはpH7.6 (Arg-C) の条件で行った結果。ペプチドはRP-HPLCで分離し、質量ピークは表1に記載しました。

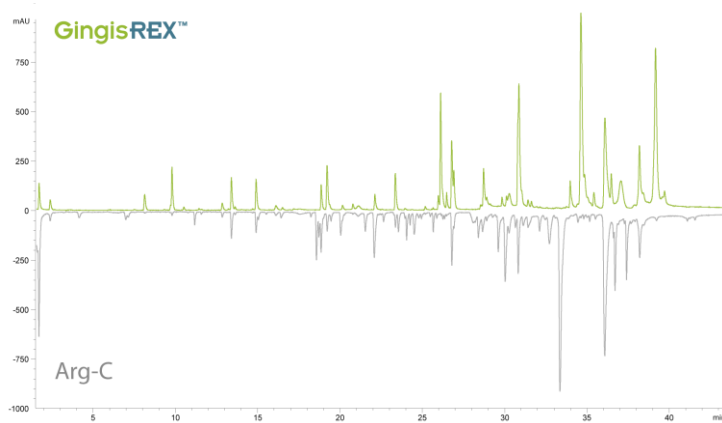


図2. GingisREXまたはArg-Cを用いて切断したトラスツマブ (Herceptin®) のペプチドマップ。トラスツマブはGingisREXまたはArg-Cを用いて1:50 (w/w) の酵素、基質比率で一晩、37°Cで処理した。反応を停止した後、ペプチドをアルキル化しRP-HPLCで分離しました。

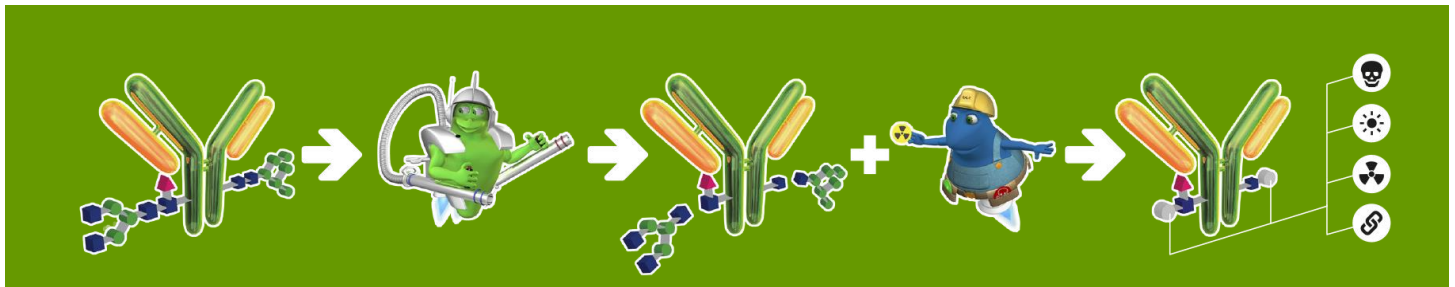
表1. 図1に記載の通り、GingisREXまたはArg-Cで酸化型インスリンβ鎖を切断した際の質量ピーク。ペプチド番号6がインタクトな酸化型インスリンβ鎖を示しています。

ピークNo.	アミノ酸配列	Expected monoisotopic mass (Da)	Measured monoisotopic mass (Da)
1	GFFYTPKA	929.5	929.5
2	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGER	2586.4	2586.5
3	GFFYTPK	858.5	858.4
4	FVNQHLCGSH	1190.6	1190.6
5	LVEALYLVCGER + Na	1434.8	1434.5
6	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA	3497.9	3496.8

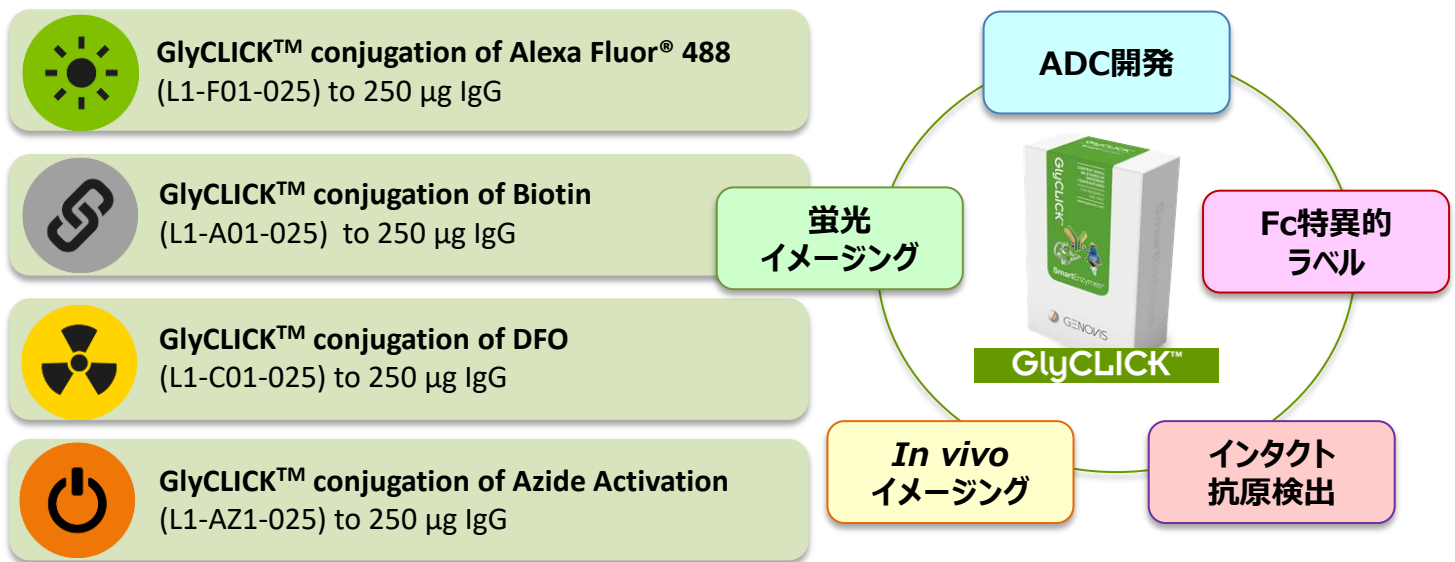
## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品		容量	希望納入価格 (円)
BO-GRX-005	GingisREX® (Rgp)	GingisREX™ – Arginine Specific Protease	5 µg	102,400

GingisREX® (Rgp)は凍結乾燥品です。プロトコールに記載されている量の滅菌水に溶解してご使用下さい。  
 GingisREX® (Rgp)はシステインプロテアーゼです。反応にはTCEP (中性pH)、Cysteine (中性pH)、DTTが必要です。詳細は本品添付の説明書をご参照下さい。  
 由来：GingisREX® (Rgp)はPorphyromonas gingivalis由来です。



- ▶ Fc糖鎖リモデリング反応とクリックケミストリーによりFc領域CH2ドメインのN結合型糖鎖部位に特異的修飾が可能
- ▶ Alexa Fluor® 488, ビオチン, deferoxamine (DFO), Azide活性化用のキットをラインアップ
- ▶ ADC (antibody drug conjugates) の研究開発に最適



## 標識反応概要



GlyCLICK™は、Fc糖鎖リモデリング反応とクリックケミストリーにより目的分子（Alexa Fluor® 488, ビオチン, deferoxamine (DFO), Azide活性化）の部位特異的修飾が可能です。

GlycINATOR® (EndoS2)による脱糖鎖反応後、galactosyl transferase, GalT(Y289L)により、GlcNAcをGalNAz残基に変換し、このazide基をリガンドとしてdibenzocyclooctyne (DIBO)によるクリック反応でFc領域特異的に目的分子で修飾します。

メーカーカタログNo.	製品		容量	希望納入価格 (円)
L1-F01-025	GlyCLICK conjugation of Alexa Fluor® 488 to 250 µg IgG		1 kit	193,200
L1-C01-025	GlyCLICK™ DFO, labeling of up to 250 µg IgG		1 kit	193,200
L1-A01-025	GlyCLICK™ Biotin, labeling of up to 250 µg IgG		1 kit	193,200
L1-AZ1-025	GlyCLICK™ Azide Activation of 250 µg IgG		1 kit	172,500

## Application ① 部位特異的な標識

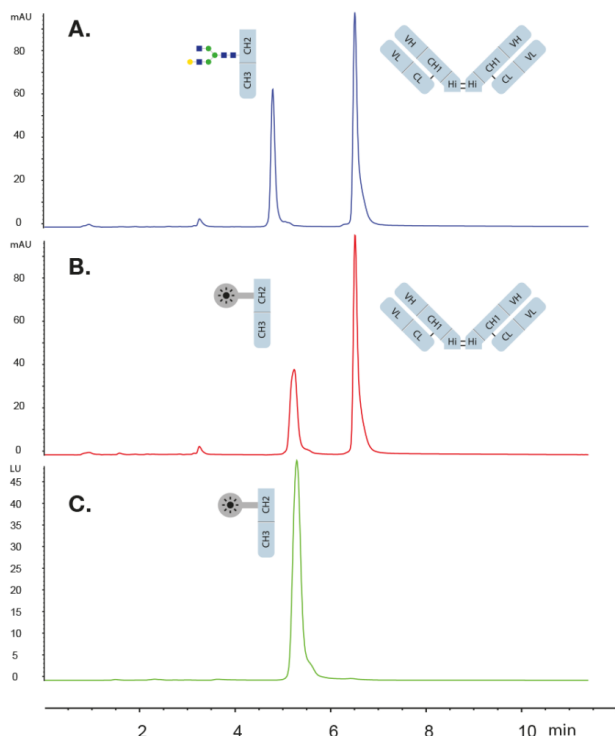


図1. Waters社 Acquity UPLC® BEH300 C4, 1.7 μm, 2.1x100 mmカラムを用い、アセトニトリル/イソプロパノールグラジエント溶離液で65°CにてAgilent社 1290を使用して得られたトラスツマブ (Herceptin®) の分析結果。

- A. FabRICATOR®を用いたF(ab')<sub>2</sub>及びFc/2断片への切断。
- B. Alexa Fluor®488を標識しFabRICATOR®を用いたF(ab')<sub>2</sub>及びFc/2断片への切断。
- C. B.の蛍光シグナル。

GlyCLICK™ は、GlycINATOR® (EndoS2) でFc領域の糖鎖をトリミングし、SiteClick™法でFc特異的に標識分子および活性基を導入するキットです。

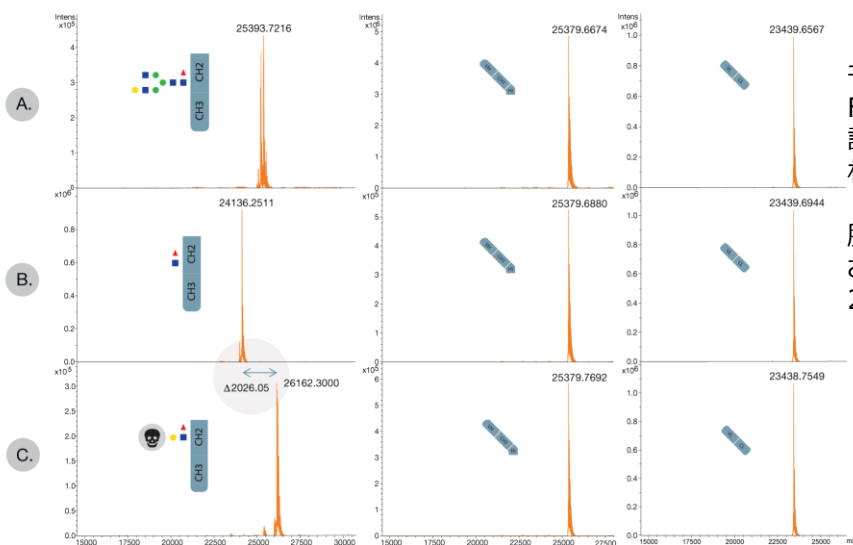
GlycINATOR® (EndoS2)がFc領域のN結合型糖鎖を除去し、GlcNAcを intactな状態で残します。

このGlcNAcに dibenzocyclooctyne (DIBO) を結合させ、クリックケミストリーにより任意の標識分子を結合させることができます。(Figure 1).

### 適用製品

- GlyCLICK™ conjugation of Alexa Fluor® 488
- GlyCLICK™ conjugation of Biotin
- GlyCLICK™ conjugation of DFO
- GlyCLICK™ conjugation of Azide Activation

## Application ② LC/MS 解析



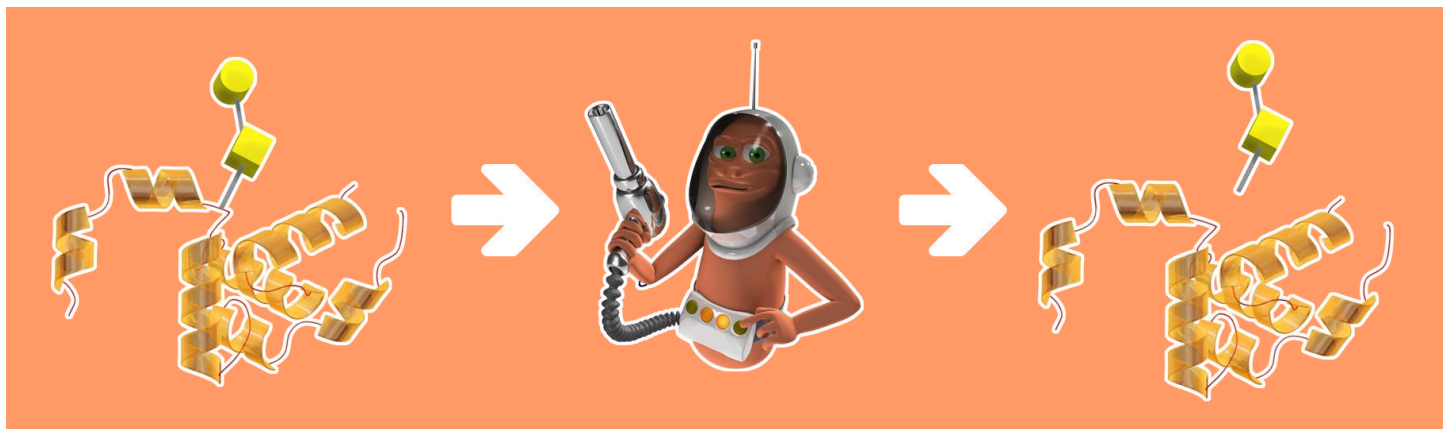
モデルケースとしてGlyCLICK™ で、trastuzumabのFc領域にMMAE (Monomethyl auristatin E) を標識し、各標識工程におけるフラクションをLC/MSにより解析しました。(Figure 2)

脱糖鎖Fc/2 (B) とGlyCLICK™ によってMMAE修飾されたFc/2との分子量差2026 Da (GalNAz 残基 245 Daと MMAE分子1781 Da) が検出できました。

図2. LC/MS解析の前に全てのサンプルがFabRICATOR®を用いて切断された。酵素サブユニットのサンプルはWaters社 BEH300 C4カラムによって逆相で分離した後、Bruker社 Impact II ESI Q-TOFに接続されたAgilent社 1290 UPLCシステムで分析した。マススペクトルはMaxEntアルゴリズムを用いて解析した。

- A. インタクトなトラスツマブ、Fc/2及びLC
- B. 固定化されたGlycINATOR®を用いて糖鎖除去されたトラスツマブ
- C. Fc/2断片へのGlyCLICK™によるアジ化活性化 (245 Da)、DIBOリンカーを持つMMAE細胞毒性薬物 (1,781 Da) 修飾及び両修飾 (2,026 Da)。





- ▶ 糖タンパク質からコア1およびコア3 O結合型糖鎖を除去 (endo- $\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase)
- ▶ シアリダーゼ SialEXO™ (G1-SM1-020) が添付済み
- ▶ MS (質量分析) によるO結合型糖鎖の残存分析に最適
- ▶ 抗体分子の糖鎖ヘテロジェネティを軽減
- ▶ 最適pH6.5 – 7.5



## ■ OglyZOR™の反応にはシアル酸の除去が必要

天然型の糖タンパク質に対するOglyZOR™の活性を測定するため、酵素をエタネルセプト、TNFR及びアバタセプトと共に SialEXO™なしで1時間、37℃で反応させた。シアル酸が除去されると、OglyZOR™酵素は3つ全ての基質からO-結合型糖鎖を効率よく加水分解します。

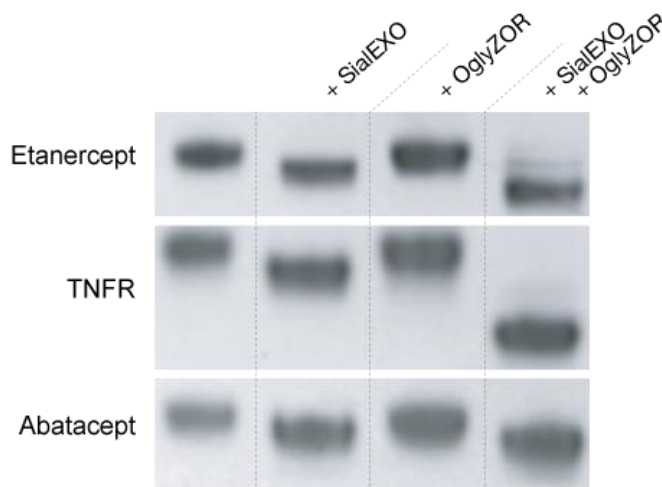
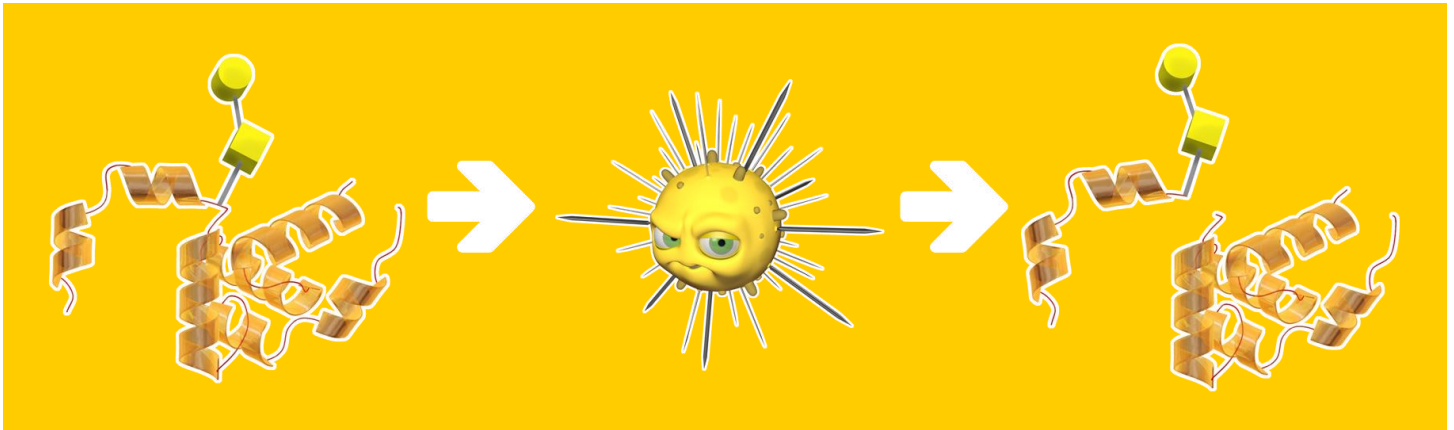


図1. OglyZOR及びSialEXOを用いた、天然型の糖タンパク質からの効率的なO-結合型糖鎖の除去

## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品		容量	希望納入価格 (円)
G2-OG1-020	OglyZOR™	<b>F</b> <sup>o</sup> OglyZOR™ (OglyZOR™ Enzyme + SialEXO™)	2,000 units	182,900

OglyZOR™およびSialEXO™はHisタグを含んでいますので、反応後にニッケルキレートレジンを除去できます。  
OglyZOR™およびSialEXO™は凍結乾燥品です。プロトコールに記載されている量の滅菌水に溶解してご使用下さい。  
ユニット定義：1ユニットのOglyZOR™は1ユニットのSialEXO™と共に20mM Tris、pH6.8、37℃で2時間反応させた際、1μgの糖タンパク質 (TNF $\alpha$ R) のO-結合型糖鎖の90%以上を除去します。  
由来：OglyZOR™は*Streptococcus oralis*由来で、*E. coli*にて発現されており、SialEXO™は*Akkermansia muciniphila*由来で、*E. coli*にて発現されています。



- ▶ 糖タンパク質のO結合型糖鎖修飾部位のセリンまたはスレオニンのN末端を認識
- ▶ シアリダーゼSialEXO™ (G1-SM1-020) が添付済み
- ▶ N結合型糖鎖には作用しない
- ▶ O結合型糖鎖修飾部位の同定に最適



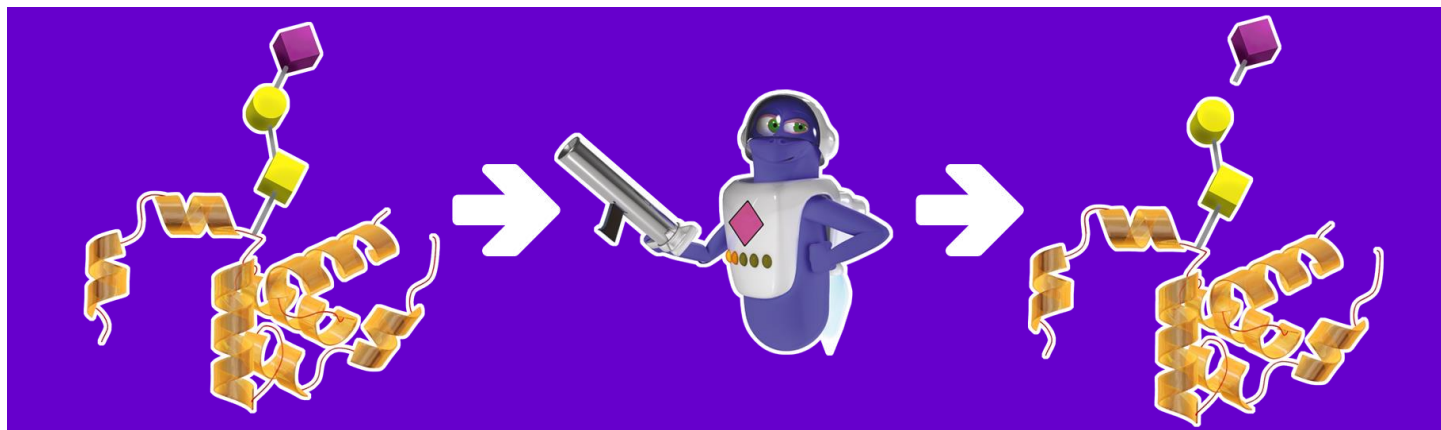
## ■ OperATOR™酵素反応の概略図



## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品		容量	希望納入価格 (円)
G2-OP1-020	OperATOR™	<b>F</b> OperATOR™ (OperATOR™ Enzyme + SialEXO™)	2,000 units	159,900

OperATOR™およびSialEXO™はHisタグを含んでいますので、反応後にニッケルキレートレジンで除去できます。  
 OperATOR™およびSialEXO™は凍結乾燥品です。プロトコールに記載されている量の滅菌水に溶解してご使用下さい。  
 ユニット定義：1ユニットのOperATOR™は1ユニットのSialEXO™と共に20mM Tris、pH6.8、37°Cで2時間反応させた際、1μgの糖タンパク質（TNFαR）の90%以上を切断します。  
 由来：OperATOR™はAkkermansia muciniphila由来で、E. coliにて発現されており、SialEXO™はAkkermansia muciniphila由来で、E. coliにて発現されています。



- ▶ O結合型およびN結合型糖タンパク質からシアル酸を除去
- ▶ 2種類のシアリダーゼ混合物
- ▶ α2-3、α2-6またはα2-8結合を認識
- ▶ 酵素反応は30 – 120分で完了
- ▶ 最適pH6.5 – 9.0
- ▶ O結合型糖鎖認識酵素 OglyZOR™およびOpeRATOR™と併用可能



注：OglyZOR™およびOpeRATOR™には本酵素が添付されています。

### ■ シアル酸結合に対するSialEXO™酵素活性

SialEXO™とα2-3、α2-6及びα2-8結合しているシアル酸をもつ各基質を反応させました。グラフはシアル酸の加水分解を示しており、SialEXO™がそれぞれ結合しているシアル酸を除去する能力を持つことを表しています。

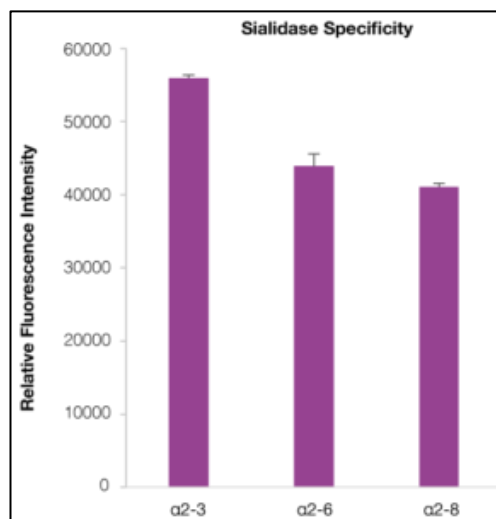


図1. 3'-sialyllactose (α2-3結合)、6'-sialyllactose (α2-6結合)、及びColominic acid (α2-8結合) の各基質のシアル酸結合に対するSialEXO™の活性

## 製品概要

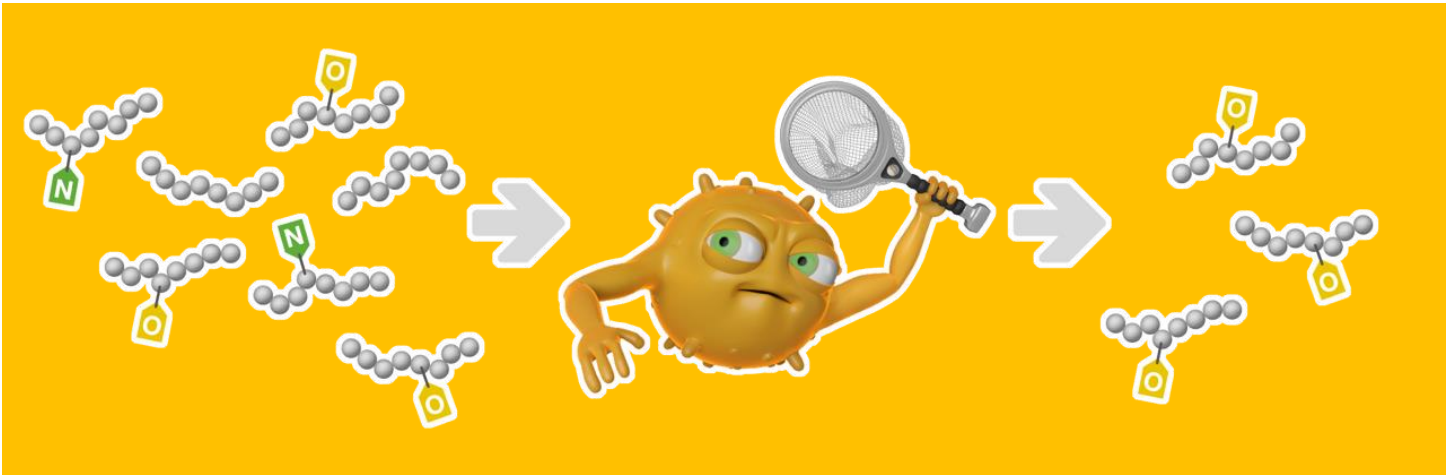
メーカーカタログNo.	製品		容量	希望納入価格 (円)
G1-SM1-020	SialEXO™	SialEXO™	2,000 units	113,900

SialEXO™はHisタグを含んでいますので、抗体消化反応後にニッケルキレートレジンで除去できます。

SialEXO™は凍結乾燥品です。プロトコールに記載されている量の滅菌水に溶解してご使用下さい。

ユニット定義：1ユニットのSialEXO™は20mM Tris、pH6.8、37°Cで2時間反応させた際、1μgの糖タンパク質 (Fetuin) の90%以上のシアル酸を加水分解します。

由来：SialEXO™はAkkermansia muciniphila由来で、E. coliで発現させています。



- ▶ O結合型糖鎖タンパク質、ペプチドの濃縮
- ▶ スピнкаラムで簡単に濃縮可能
- ▶ シアル酸除去(SialEXO™)で結合が増加
- ▶ OperATOR™(G1-OP1-002)、SialEXO™(G1-SM1-002)が添付



## ■ ペプチド混合物からのO-GalNAcGalペプチドの濃縮

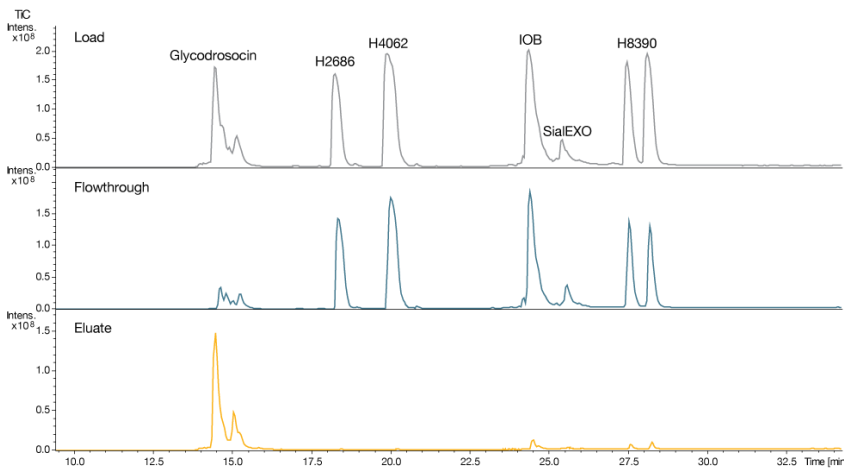



図1. H2686、H4062、H8390、酸化型インスリンβ鎖（IOB）及びGlycodrosocinを含むペプチド混合物とSialEXO™をGlycOCATCH™レジンへ添加しました。混合物中にO-GalNAcGalを含む唯一のペプチドであるGlycodrosocinは主として溶出画分にみられ、それ以外のペプチドは通過画分にみられました。分離操作はRP-LC C18カラム（Advance BioPeptide Map 2.1×100 2.7µm [Agilent社]）で行われ、ESI-Q-TOF（Bruker社 Impact II mass spectrometer）で検出しました。

## 製品概要

メーカーカタログNo.	製品	容量	希望納入価格 (円)
G3-OC6-002	 GlycOCATCH™	200 µg	136,900



## KANEKA KanCapA™ Prepacked Column

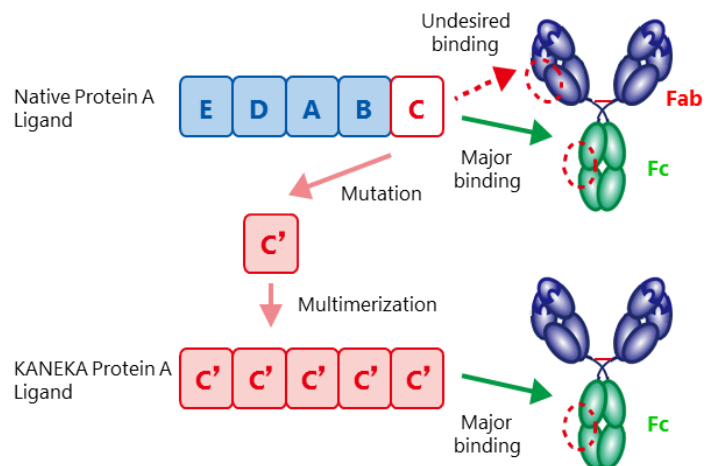
KANEKA KanCapA™ Prepacked Columnは、抗体およびFc融合キメラタンパク質の精製に使用可能なプレパックカラムです。イムグロブリンのFc領域に特異的に結合する新規アルカリ耐性プロテインAを固定化したセルロース担体が充填されています。スクリーニング、初期開発プロセス、小スケール精製等にご使用ください。



### 特長

- ▶ アルカリ耐性及び長寿命
- ▶ 溶出pHを最適化
- ▶ 高吸着容量
- ▶ 容易にスケールアップ可能
- ▶ 再生利用可能
- ▶ Ready to use

### 改変型プロテインA



本品に採用しているプロテインA

- 1) CDメイン5量体タンパク質
- 2) アルカリ耐性の高上
- 3) Fab領域への非特異結合減少

**最適pH条件下でシャープに抗体溶出**

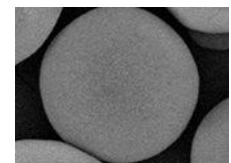
### 製品概要

コードNo.	品名	容量	希望納入価格 (円)
111-01081	KANEKA KanCapA™ Prepacked Column	1 mL	22,000
117-01083		5 mL	60,000
115-01084		5×5 mL	240,000

### 関連製品

#### 精製用レジン KANEKA KanCapA™

KANEKA KanCapA™は、生体試料や細胞培養上清から免疫グロブリン、およびそのFc領域を含む組換え抗体などを精製できるプロテインAアフィニティークロマトグラフィーレジンです。本品は高架橋セルロースビーズと新規のアルカリ耐性プロテインAリガンドから構成され、IgGのアフィニティー精製に使用できます。



高架橋セルロースビーズ

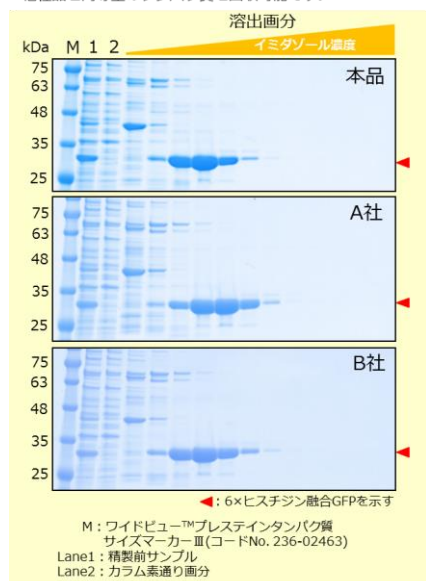
コードNo.	品名	容量	希望納入価格 (円)
114-01071	KANEKA KanCapA™	2 mL (net 1 mL)	10,000
110-01073		10 mL (net 5 mL)	40,000
118-01074		50 mL (net 25 mL)	150,000

## Ni-NTA カートリッジ、Ni-NTA アガロース

Ni-アガロースは、6×ヒスチジン融合タンパク質のアフィニティー精製に使用されます。  
Ni-NTA カートリッジ (146-09731) は、Ni-NTAアガロース (147-09761) をカラムに詰めたプレパック品です。  
液体クロマトグラフィーを用いたタンパク質精製にご使用いただけます。

### 他社品比較データ

他社品と同等量のタンパク質を回収可能です。



### 使用例

- ①超音波破砕法により、6×ヒスチジン融合GFPを大腸菌から回収し、精製前サンプルとする。
- ②本品を液体クロマトグラフィーシステムへ接続する。
- ③Running Buffer 150mℓ でカラムを平衡化する。
- ④精製前サンプルを供す。
- ⑤Running Buffer 100mℓ で洗浄する。
- ⑥Elution Buffer 150mℓ で溶出する。
- ⑦Running Buffer 100mℓ で洗浄する。
- ⑧SDS-PAGE、CBB染色を行う。

## 製品概要

コードNo.	品名	容量	希望納入価格 (円)
146-09731	Ni-NTA Cartridge	1本(5 mL)	13,000
142-09733		1本×5 (5 mL)	55,000
147-09761	Ni-NTA Agarose	2 mL (Net 1 mL)	4,500
143-09763		10 mL (Net 5 mL)	10,500
141-09764		100 mL (Net 50 mL)	62,000

## 関連製品

高性能タイプのNi-NTAアガロースレジ

### Ni-NTA アガロース HP (High Performance)

Ni-NTA アガロース HPはリガンドにニトロトリ酢酸(NTA)を用いており、金属イオンの脱落によるタンパク質純度の低下を抑えます。また、変性剤耐性を有し、FPLCにも対応しています。

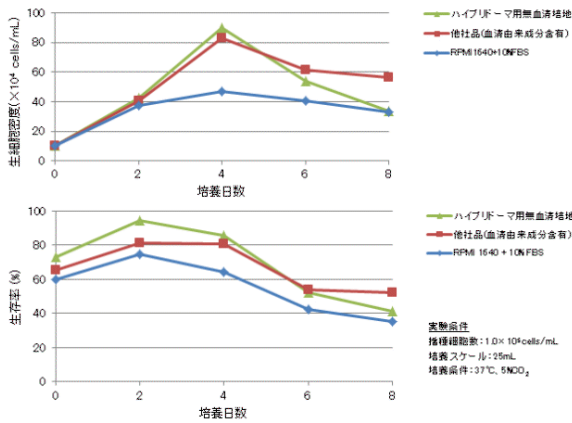
コードNo.	品名	容量	希望納入価格 (円)
149-09684	Ni-NTA Agarose HP	2 mL (Net 1 mL)	85,000
145-09681		10 mL (Net 5 mL)	13,000
141-09683		100 mL (Net 50 mL)	100,000

# ハイブリドーマ用無血清培地

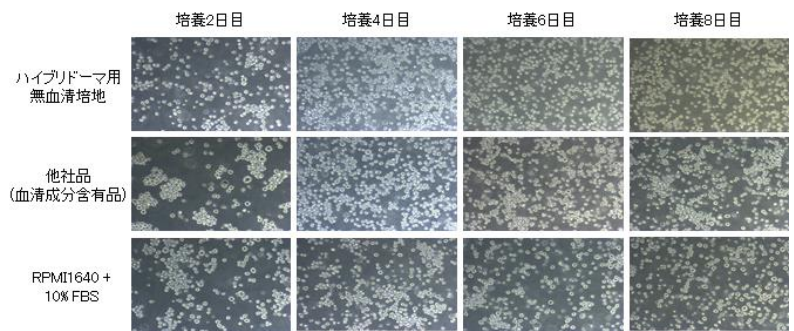
本製品はハイブリドーマ培養用の無血清培地です。抗体産生にご使用いただけます。

- ▶ ロット間差なし（無血清培地）
- ▶ 血清成分含有培地と同等の細胞増殖能
- ▶ 血清成分含有培地と同等の抗体産生能

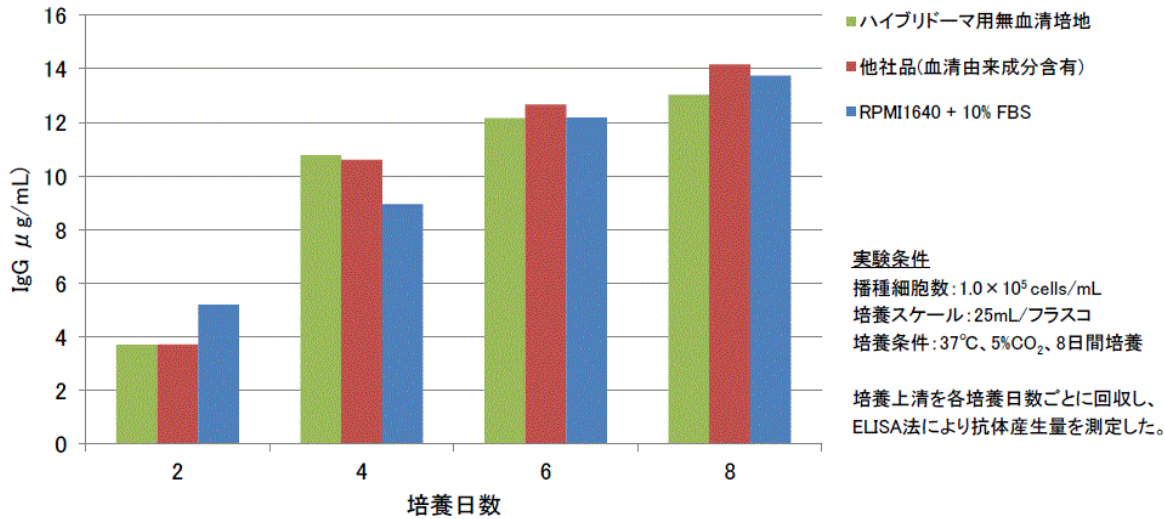
## ■ 生細胞密度、生存率



## ■ 細胞形態



## ■ 抗体産生量



## 製品概要

コード	品名	容量	希望納入価格 (円)
081-10381	ハイブリドーマ用無血清培地	1 L	12,000
297-73101	プロテインアッセイBCAキット	250 tests	15,000
637-25715	ギット培地	500 mL	8,700
635-25711		500 mL×10	70,000

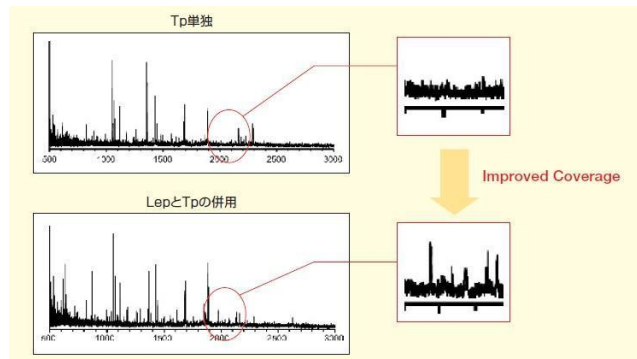
## Lysyl Endopeptidase®

リシンのカルボキシル基側のペプチド結合を極めて特異的に切断するセリンプロテアーゼです。

タンパク質の切断部位を特異的かつ効率的に分解でき、ペプチド質量によるデータベース検索が容易になります。

### トリプシン(Tp)、リシルエンドペプチダーゼ(Lep)およびこれらを併用した場合の比較

#### Tp単独とTpとLepを併用した場合の質量分析スペクトル



#### TpとLepおよびこれらを併用した場合の比較

	Tp	Lep	Tp と Lep の併用
切断部位	Arg, Lysの C末端	Lysの C末端	Arg, Lysの C末端
Missed Cleavage (切れ残ったペプチドの割合)※	多い (8%)	ほとんどない (0%)	少ない (3%)
同定できたペプチド数	17	19	22

※Missed Cleavage 1でデータベース検索した時のCoverage (得られたペプチドが配列全体に占める割合) からMissed Cleavage 0で検索した時のCoverageを引いた値。

Lep単独使用では、Missed Cleavageがほとんどないことがわかります。TpとLepの併用では、Tp単独と比較してMissed Cleavageが減少し、同定できたペプチド数が増加しています。

TpとLepの併用では、Tp単独では得られないピークが、m/z 2000付近に得られました。これはペプチドの回収率が上がったことを示します。

データ提供：大阪府立母子医療センター 和田芳直先生

## 製品概要

コードNo.	品名	容量	希望納入価格 (円)
125-05061	リシルエンドペプチダーゼ、質量分析グレード <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">F</span>	20 µg×5	19,500
125-02543	リシルエンドペプチダーゼ® <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">F</span>	1 vial (2AU)	8,800
129-02541		1 vial (10AU)	41,000
127-06621	リシルエンドペプチダーゼ®溶液 <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">Ref</span>	1本 (5AU)	25,000
295-50201	DNAエキストラクター® キット <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">F</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">危</span>	50回用	19,500
202-15951	トリプシン、ブタ膵臓由来、質量分析グレード <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">Ref</span>	20 µg×5	17,900
299-58901	銀染色MSキット <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">Ref</span>	20 tests	19,000
293-57701	ネガティブゲル染色MSキット	20 tests	34,000

Ref…2~10℃保存 F…-20℃保存 F…-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。  
 特定 I…特定毒物 II…毒物 III…劇物 毒…毒薬 劇…劇薬 危…危険物 向…向精神薬 特麻原…特定麻薬向精神薬原料  
化審1…化審法第一種特定化学物質 化審2…化審法第二種特定化学物質 化武1…化学兵器禁止法第一種指定物質 化武2…化学兵器禁止法第二種指定物質 カルタヘナ…カルタヘナ法  
 覚せい剤取締法…「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。  
 国民保護法…生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを認める証を頂戴しております。

●本文に記載しております試薬は、試験・研究用にのみ使用されるもので、「医薬品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。  
 ●希望納入価格には消費税等が含まれておりません。 ●掲載内容は、2019年1月時点での情報です。上記以外の法律および最新情報は、弊社Webサイト (<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/index.html>)をご参照下さい。

## 富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)  
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所 ●中国営業所
  - 東海営業所 ●横浜営業所
  - 筑波営業所 ●東北営業所
  - 北海道営業所
- フリーダイヤル 0120-052-099  
 フリーファックス 0120-052-806  
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/index.html>

■FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA TEL:+1-804-714-1920 FAX:+1-804-271-7791  
 ■FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH Fuggerstraße 12, 41468 Neuss, Germany TEL:+49-2131-311-0 FAX:+49-2131-311-100

Online Catalog: [www.e-reagent.com](http://www.e-reagent.com)