

抗体碱性峰检测中重组羧肽酶 B 的使用

1. 羧肽酶 B 碱性峰

如果原研药酸峰 30，主峰 50，碱性峰 20。样品的酸峰 30，主峰 45，碱性峰 25。羧肽酶 B 处理后，原研药酸、主、碱峰仍是 30，50，20。样品的酸，主，碱峰变为 30，50，20。说明样品与原研药只差 5%的赖氨酸变体导致的碱性峰。这种情况在申报上标明即可，国外实验对安全性有效性没有影响的。欧盟对此类的仿制药，也可批准上市。所以在抗体电荷检测应用上必须使用羧肽酶 B。

2. 在抗体碱性峰检测中重组羧肽酶 B 的建议使用方法

酶解时 pH: 7.5-9.0,

最适 pH:pH7.6

分析时 pH: 6.0-9.0

酶解时间： 1h--3h

酶解温度： 25℃-37℃

重组羧肽酶 B 的用量不要太大（建议样品：酶= 20:1-100:1）

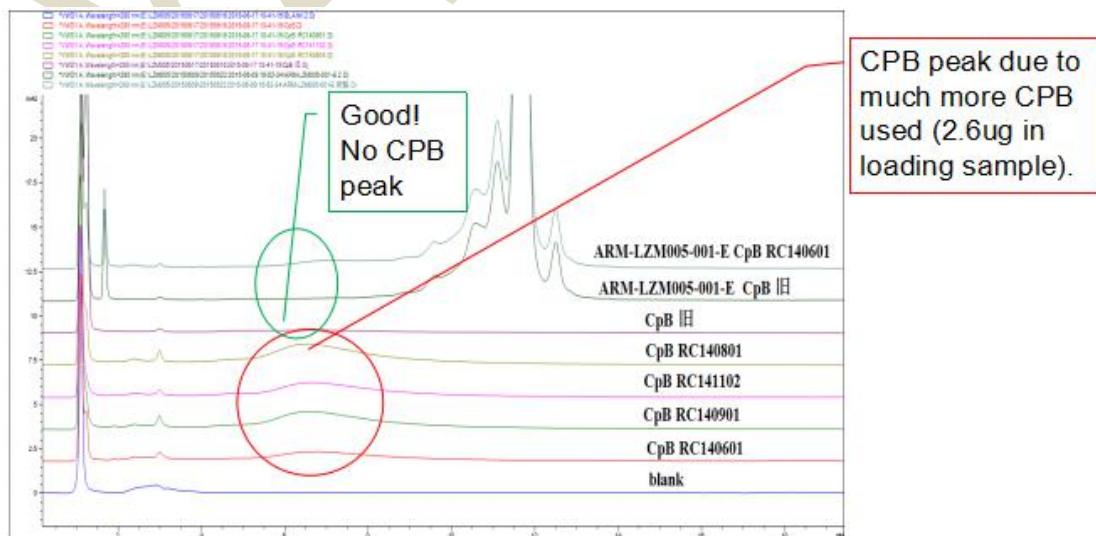


图 1.使用不同浓度羧肽酶 B 的图谱比较

上海雅心生物技术有限公司 电话：021-54336592

地址：上海市徐汇区银都路 466 号 1 号楼 106 室 网址：<http://www.yaxinbio.com> 邮箱：Zhaozhi@yaxinbio.com

羧肽酶 B 的准备：用 1X PBS pH7.5，溶解羧肽酶 B 至 1g/L，分装后-20℃保存。

抗体：纯化后的单抗样品超滤至磷酸缓冲液(pH=7.5)中(1~2g/L)。

酶用量：按样品：酶= 20:1-100:1，此处用量为 100:1。

孵育温度及时间：37℃反应 30 分钟。

检测：直接进样 HPLC 检测。

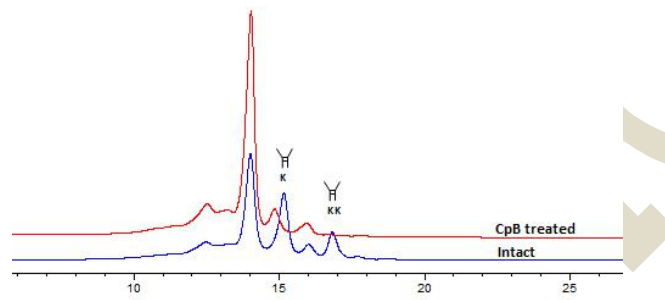


图 2.抗体经 CPB 处理和未处理的图谱比较

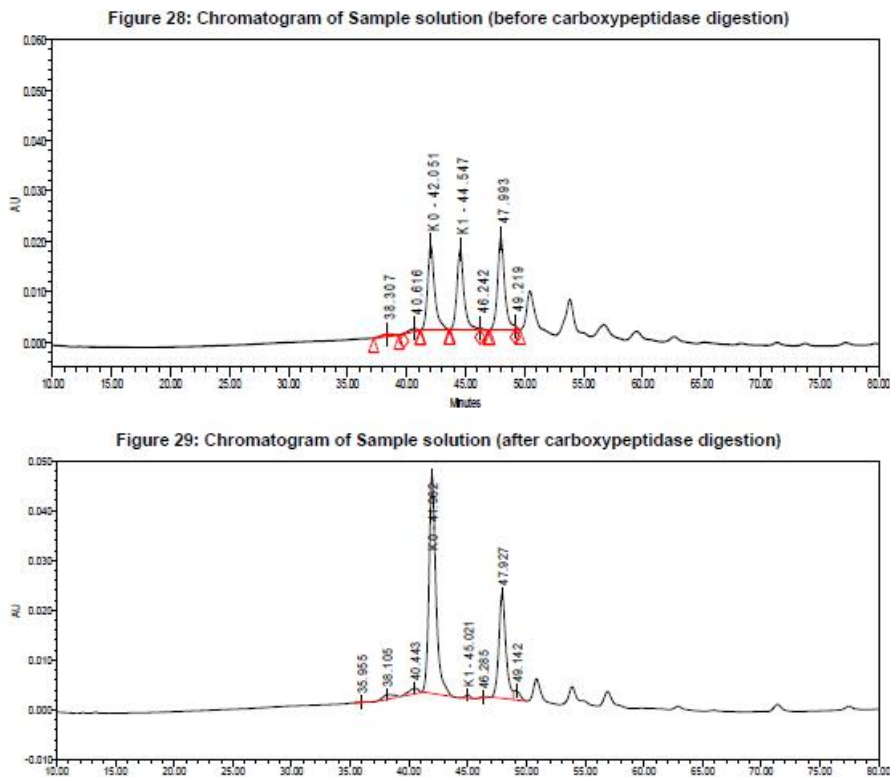


图 3.Rituximab 羧肽酶 B 处理前后比较图（摘自 Rituximab 的 USP 验证报告）

在 Rituximab 的 USP 验证报告中，规定了酸、碱性变体的含量。规定 Rituximab 的酸性变体 NMT 12.0% ，碱性变体 NMT 10.0%。鉴定方法为 CPB 处理前后的 HPLC 比较。

雅心生物多年来致力于重组蛋白酶的研究，可提供生物医药用酶及相应的申报用资料。测序级肽图用酶如重组胰蛋白酶、重组羧肽酶 B、V8 和重组糜蛋白酶等。了解更多相关信息可登陆雅心生物官网 www.yaxinbio.com

YAXINBIO