

Recombinant DT3C Protein

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V 1.3.4

产品信息

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|---------------|--------------------------|--------|
| GM-046001RP-1 | Recombinant DT3C Protein | 100 µg |
| GM-046001RP-2 | | 1 mg |

储存温度

收货后，在低于 -70°C 条件下可稳定保存 12 个月。 4°C 可短时间保存（1-2 周）。避免反复冻融。推荐分装成小规格以方便使用。

检测原理

DT3C 是重组表达的融合蛋白，由白喉毒素的 Fragment A（仅毒素部分）和 G 群链球菌的 3C 片段（IgG 结合部分）融合而成。该蛋白能够与抗体的 Fc 端高度亲和，与抗体结合的 DT3C 分子在抗体被内吞时一同进入细胞，在胞内弗林蛋白酶的作用下，释放出具有毒性的 DT，DT 能够抑制 EF2-ADP 核糖基化的活性，阻断蛋白翻译过程，最终导致细胞死亡，而未进入细胞的 DT3C 则不具有杀伤细胞的活性。因此可根据细胞杀伤情况来评价抗体的内化效率。

产品简介

吉满生物重组 DT3C 蛋白 (Cat.GM-046001RP) 从大肠杆菌中 (*E.coli*) 表达，包含 33-417aa (P00588) & 291-497aa (P19909)，8×His 标签序列置于 DT3C 编码序列的 N 端，纯度 $\geq 90\%$ (SDS-PAGE)，分子量 69.4 kDa，溶解在 pH7.4 的 PBS 中，经过 $0.2\ \mu\text{m}$ 过滤膜除菌，内毒素 $< 1\text{EU}/\mu\text{g}$ 。

吉满生物重组 DT3C 蛋白使用非常简便，将 DT3C 蛋白和目的抗体孵育 30 min 即可形成 mAb-DT3C 共轭物。该共轭物可直接加到完全培养基的细胞中进行孵育。其在体外的功能类似于抗体药物共轭物 (ADC)，将白喉毒素的细胞毒性效应通过内化作用有针对性地传递到靶细胞中，评估细胞对 mAb 内化效率。

实验步骤（抗体内化效率测定-贴壁细胞）

- 1) 取对数生长期的细胞。消化，计数，离心，用含 20% FBS 培养基将细胞重悬到所需要的浓度。
- 2) 96 孔板，100 μL /well 注入细胞悬液。培养箱中培养过夜。
- 3) 第二天，将 DT3C 与抗体用无血清培养基稀释到合适浓度，按比例混合，过滤除菌。37°C 培养箱中孵育 30 min。用无血清培养基将混合液梯度稀释。向 96 孔板中依次加入梯度稀释的混合液，100 μL /well。
- 4) 培养箱中孵育 48-72 h。每孔吸出 100 μL 丢弃。每孔加入 100 μL GMTiter 检测试剂（Cat.GM-040504）。10 min 后读取 Luc 值。

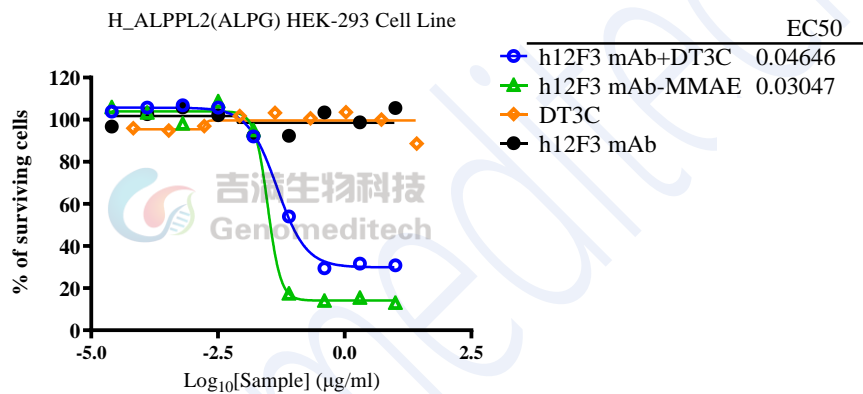


图.1 细胞内化实验（h12F3 mAb 与 DT3C 的摩尔比为 1:6、细胞量 3×10^3 Cells/孔、除 DT3C 以外，横坐标为抗体的浓度）

注： Anti-H_ALPPL2 hIgG1 Reference Antibody(h12F3)(Genomeditech/GM-86291AB) 简称 h12F3 mAb
Anti-ALPPL2-MMAE ADC(Dar4)[SGN-ALPV] (Genomeditech/GM-81151AB) 简称 h12F3 mAb -MMAE

FAQ

1) 问：血清对 DT3C 和目的抗体连接有影响么？

答：免疫球蛋白 G (IgG) 是血清中免疫球蛋白的主成分。可影响 DT3C 和目的抗体的连接。所以 DT3C 和目的抗体连接时要在无血清培养基中进行。

2) 问：DT3C 的有效浓度？

答：一个抗体理论上可结合 2 个 DT3C 分子，即抗体与 DT3C 的摩尔比为 1:2。但在具体实验中，内化效率与不同类型细胞、抗原表达情况、抗体表位及亲和力等均密切相关，因此需在早期探索两者的最佳比例。可通过抗体浓度固定，做 DT3C 浓度梯度，确定最佳的 DT3C 杀伤浓度；固定 DT3C 浓度，做抗体浓度梯度，确定最佳的抗

体内化浓度；最后根据稀释比例，将最佳的 DT3C 浓度和最佳的抗体浓度一起进行测试。

附录：

| Product Name | Recombinant DT3C Protein |
|--------------|---|
| AA sequence | <p>GADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTKPGYVDSIQKGIQKPK SGTQGNYYDDDWKGFYSTDNKYDAAGYSVDNENPLSGK AGGVVKVTYPGLTKVLALKVDNAETIKKELGLSLTEPL MEQVGTEEFIKRFGDGASRVVLSLPFAEGSSSVEYINNW EQAKALSVELEINFETRGRKRGQDAMYEMAQACAGNR VRRSVGSSLSCINLDWDVIRDKTKTKIESLKEHGPIKNK MSESPNKTVSEEKAKQYLEEFHQTALEHPELSELKTVTGT TNPVFAGANYAAWAVNVAQVIDSETADNLEKTTAALSIL PGIGSVMGIADGAVHHNTEEIVAQSIALSSLMVAQAIPLV GELVDIGFAAYNFVESIINLFQVVHNSYNRPAYSPGHK+lin ker(GGGGSGGGGSGGGGS)+IDEILAALPKTDTYKLILNG KTLKGETTTEAVDAATAEKVFKQYANDNGVDGEWTYD DATKTFTVTEKPEVIDASELTPAVTTYKLVINGKTLKGET TTEAVDAATAEKVFKQYANDNGVDGEWTYDDATKTFTV TEKPEVIDASELTPAVTTYKLVINGKTLKGETTTKAVDAE TAEKAFKQYANDNGVDGVWTYDDATKTFTVTE</p> |

本试剂盒仅供科研使用！