

# ビオチン化 SARS-CoV-2 変異スパイク蛋白 RBD(K417T, E484K, N501Y)・ウサギ Fc タグ (20 $\mu$ g)



Code No. HAK-SPDBR\_bio-1

2021年5月27日作成

## バックグラウンド

最近、COVID-19の原因である新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) がヒトの細胞に感染する際、細胞膜に存在する ACE2(アンジオテンシン変換酵素2)に結合してから細胞内に取り込まれることが明らかとなり、ACE2 は新型コロナウイルスの受容体でも考えられています。<sup>(1)</sup>

SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の多重変異を特徴とする変異株は、発生国を基に3系統 [英国 VOC-202012/01(B.1.1.7)、南アフリカ 501Y.V2(B1.351)、ブラジル 501Y.V3(P.1)] が報告されています。

N501Y は、これら3系統の変異株に見られる変異であり、伝染性の増加に関係しています。

E484K は、501Y.V2 および 501Y.V3 を含む変異株に見られる変異であり、SARS-CoV-2 を中和するモノクローナル抗体からの逃避変異であると報告されています。<sup>(2, 3)</sup>

さらに南アフリカ型とブラジル型は417番目のリジンがそれぞれアスパラギン、チロシンに置換されています。

別売試薬ヒト ACE2 蛋白・His タグ(HAK-ACE2\_UL-1)を96穴プレートに固相し、本試薬ビオチン化 SARS-CoV-2 変異スパイク蛋白 RBD(K417T, E484K, N501Y)・ウサギ Fc タグ(HAK-SPDBR\_bio-1)を加え、HRP 標識したアビジンで検出させることで、高感度なバインディング・アッセイを提供します。

## 製品情報

### 1. タンパク質構造

ビオチン化 SARS-CoV-2 変異スパイク蛋白 RBD(K417T, E484K, N501Y)・ウサギ Fc タグ(HAK-SPDBR\_bio-1) は、SARS-CoV-2 Variant Spike glycoprotein Receptor-binding domain(K417T, E484K, N501Y)の Arg319-Phe541 の C 末端にウサ

ギ IgG1 Fc タグを付けて HEK293 細胞で発現させ、プロテイン A カラムを用いて精製したものが含まれています。

### 2. 純度

> 95% (SDS-PAGE)

### 3. 組成

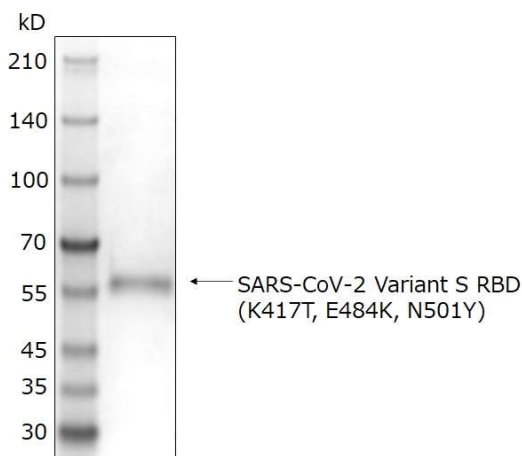
ビオチン化 SARS-CoV-2 変異スパイク蛋白 RBD(K417T, E484K, N501Y)・ウサギ Fc タグ 1mg/mL  
0.1% BSA  
0.1M-PBS (pH7.2~7.4)

### 4. 保存

凍結融解の繰り返しは避けてください。  
製品は受領時に-70°C 以下で保管して下さい。使用時に小分け分注を推奨します。

### 5. SDS-PAGE

ビオチン化前の本製品 500ng を4~20%グラジエント・ゲルで電気泳動し、CBB 染色した。



## 使用例

### 1. バインディング・アッセイ

固相化した 1 $\mu$ g/mL のヒト ACE2 蛋白・His タグ(100 $\mu$ L/ウェル)に 4.12 - 3000ng/mL のビオチン化 SARS-CoV-2 変

本品は、研究目的のみご使用ください。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないでください。

お問い合わせ先：株式会社ハカレル 〒567-0085 茨木市彩都あさぎ 7-7-18、TEL. 072-657-9980、E-mail. info@hakarel.com

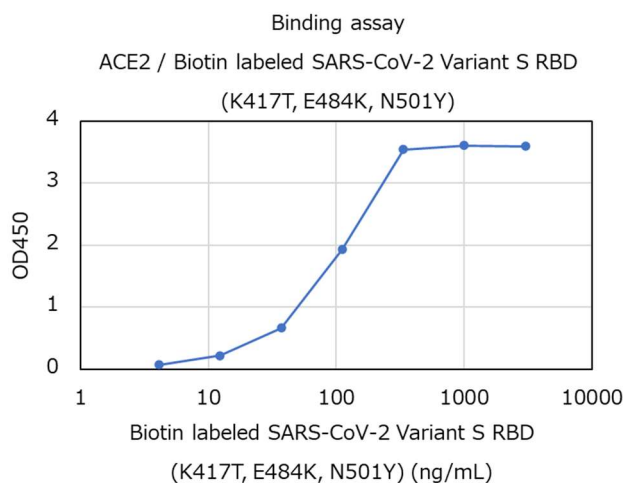
# ビオチン化 SARS-CoV-2 変異スパイク蛋白 RBD(K417T, E484K, N501Y)・ウサギ Fc タグ (20 $\mu$ g)



Code No. HAK-SPDBR\_bio-1

2021年5月27日作成

異スパイク蛋白 RBD(K417T, E484K, N501Y)・ウサギ Fc タグを結合させ、HRP 標識アビジンで検出した。この際の検量線において、線形範囲 (リニアレンジ) は 4.12-333.3ng/mL であった。



## 参考文献

- (1) Alexandra C. Walls, Young-Jun Park, et al., Cell 180, 1-12 (2020)
- (2) Weisblum Y, et al., Elife. 9:e61312 (2020)
- (3) Gaebler C, Wang Z, et al., Nature 591, 639-644 (2021)

# Biotin-labeled SARS-CoV-2 Variant Spike glycoprotein Receptor-binding domain(K417T, E484K, N501Y), Rabbit IgG1 Fc tag (20µg)



Code No. HAK-SPDBR\_bio-1

Created on May 27, 2021

## Background

Recently, it was clarified that the Spike glycoprotein of SARS-CoV-2 binds to Angiotensin-converting enzyme 2(ACE2) present on the cell membrane and then the virus is taken up into the cell when the infection occurs. Therefore, ACE2 is considered as a receptor for SARS-CoV-2 and this product (SARS-CoV-2 Spike glycoprotein Receptor-binding domain, Rabbit IgG1 Fc Tag) corresponds to the binding site of the Spike glycoprotein to the viral receptor ACE2. <sup>(1)</sup>

Based on the country of origin, the multiple mutant strains of SARS-CoV-2 spike protein are three strains of UK VOC-202012 / 01 (B.1.1.7), South Africa 501Y.V2 (B1.351), and Brazil 501Y.V3 (P1).

N501Y is a mutation found in variant strains including these lineages, implicated to increase transmissibility.

E484K is a mutation found in variant strains including 501Y.V2 and 501Y.V3, reported to be an escape mutation from a monoclonal antibody which neutralize SARS-CoV-2 implicated to increase transmissibility. <sup>(2,3)</sup>

In addition, lysin residues at amino acid 417 in 501Y.V2 and 501Y.V3 are substituted to asparagine and tyrosine, respectively.

As shown in the usage example, a highly sensitive binding assay can be performed by this product (HAK-SPDBR\_bio-1) and human ACE2 His tag (HAK-ACE2\_UL-1).

## Product information

### 1. Protein Structure

Biotin-labeled SARS-CoV-2 Variant Spike glycoprotein Receptor-binding domain (K417T, E484K, N501Y), Rabbit IgG1 Fc Tag (HAK-SPDBR\_bio-1) contains Arg319-Phe541 of SARS-CoV-2 Variant Spike glycoprotein tagged with Fc region of rabbit IgG1 at its C-terminus. The protein was expressed and secreted from HEK293 cells, followed by the purification using a Protein A column.

### 2. Purity

> 95% (SDS-PAGE)

### 3. Composition

SARS-CoV-2 Variant Spike glycoprotein Receptor-binding domain (K417T, E484K, N501Y), Rabbit IgG1 Fc Tag  
1mg/mL,  
0.1% BSA,  
0.1M PBS (pH7.2~7.4)

### 4. Storage:

Please avoid repeated freeze-thaw cycles.

The product must be stored at -70°C or lower upon receipt.

It is recommended to make small aliquots when using.

### 5. SDS-PAGE

500ng of the product before biotinylation was electrophoresed on 4~20% gradient gel and stained with CBB.

For research use only, not for diagnostic use.

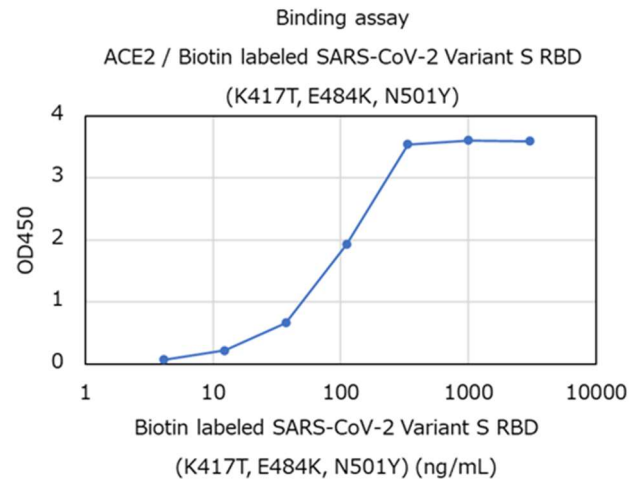
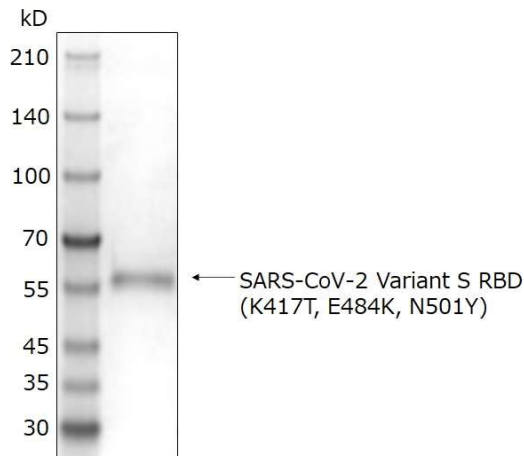
Please read this manual carefully before use.

# Biotin-labeled SARS-CoV-2 Variant Spike glycoprotein Receptor-binding domain(K417T, E484K, N501Y), Rabbit IgG1 Fc tag (20µg)



Code No. HAK-SPDBR\_bio-1

Created on May 27, 2021



## Usage example

### 1. Binding assay

Human ACE2 His tag was immobilized in a 96-well plate by adding at 0.1µg/100 µL/well. Then 4.12 - 3000ng/mL of Biotin-labeled SARS-CoV-2 Variant Spike glycoprotein Receptor-binding domain (K417T, E484K, N501Y), Rabbit IgG1 Fc Tag was added to the wells. The binding was detected with HRP-labeled streptavidin.

The linear range in the standard curve was 4.12-333.3ng/mL. Detail protocol for the binding assay is provided separately.

In this protocol, replace Biotin-labeled SARS-CoV-2 Spike glycoprotein Receptor-binding domain with Biotin-labeled SARS-CoV-2 Variant Spike glycoprotein Receptor-binding domain (K417T, E484K, N501Y).

## References

- (1) Alexandra C. Walls, Young-Jun Park, et al., Cell 180, 1-12 (2020)
- (2) Weisblum Y, et al., Elife. 9:e61312 (2020)
- (3) Gaebler C, Wang Z, et al., Nature 591, 639-644 (2021)