

Endoproteinase Asp-N

Code No. 7329

Size:

2 μ g

Supplied Reagent (5X) :

250 mM Sodium phosphate, pH 8.0 1 ml

Description :

Endoproteinase Asp-N is a metalloprotease which specifically cleaves the peptide bonds at the amino side of aspartic acid or cysteic acid residues of proteins and peptides.

Source : *Pseudomonas fragi* mutant

Form : Lyophilized
(containing the equivalent to 50 μ l of 10 mM Tris-HCl, pH 7.5)
Reconstitute lyophilized Endoproteinase Asp-N in 50 μ l of distilled water.

Storage : below 4°C (under dry condition)

Quality Control Data :

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Definition of Activity :

One azocoll unit is defined as the activity that will set free as much azo dyestuff which yields an absorbance of 0.001 at 520 nm per minute at 37°C, pH 7.5.

Specific Activity : ≥ 20 U/ μ g

Properties :

Optimum pH : 7.0 - 8.0

Optimum temp : 37°C

Inhibitors : 2-phenanthroline, EDTA

Tolerance to denaturants :

Stable against ≤ 1 M urea

≤ 1 M guanidine-HCl

$\leq 0.01\%$ SDS

$\leq 10\%$ (v/v) acetonitrile

References:

- 1) Noreau J and Drapeau G R. *J Bacteriol.* (1979) **140**: 911-916.
- 2) Drapeau G R. *J Biol Chem.* (1980) **255**: 839-840.
- 3) Geuss U, et al. *J Protein Chem.* (1990) **9**: 299-300.

Application:

Cleavage of reduced soluble lysozyme by Endoproteinase Asp-N

Reaction Condition

Substrate : 1 nmol
Enzyme : 0.25 μ g (approximately 10 pmol)
Reaction buffer : 50 mM sodium phosphate, pH 8.0
Reaction volume : 100 μ l
Reaction temperature : 37°C
Reaction time : 4 hours

Results:

Results are shown in Figure 1 and 2. Non-specific cleavage at sites other than -X-Asp- was not observed.

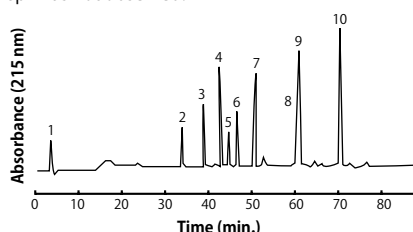


Figure 1. HPLC of digests of reduced soluble lysozyme by Endoproteinase Asp-N

Column : Nucleosil 5C₁₈-AR (4.6 ϕ x 150 mm)
Solvent A : 0.05% TFA/H₂O
Solvent B : 0.05% TFA/CH₃CN
Elution : 0 $\rightarrow$ 15% B/0 $\rightarrow$ 15 min
15 $\rightarrow$ 27.5% B/15 $\rightarrow$ 65 min
27.5 $\rightarrow$ 42.5% B/65 $\rightarrow$ 80 min
Flow rate : 0.5 ml/min
Detection : 215 nm

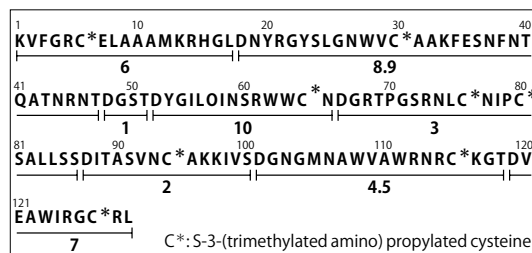


Figure 2. Amino acid sequence of cleaved peptide fragments

Peptide fragments produced from cleavage by Endoproteinase Asp-N are shown. The numbers under the line correspond to the peaks in HPLC (Figure 1).

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

Endoproteinase Asp-N

Code No. 7329

容量： 2 μ g

添付試薬 (5 $\times$)：

250 mM Sodium phosphate, pH8.0 1 ml

●製品説明

タンパク質およびペプチドのアスパラギン酸およびシステイン酸残基のアミノ基側のペプチド結合を特異的に切断する。

●由来 *Pseudomonas fragi* 変異株

●形状 凍結乾燥品
(10 mM トリス塩酸緩衝液 (pH7.5) 溶液 50 μ l を凍結乾燥)
使用時は、滅菌水 50 μ l に溶解して使用する。

●保存 4℃以下乾燥状態

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

●活性の定義

37℃、pH7.5 において 1 分間あたりにアゾ色素を遊離して 520 nm の吸光度を 0.001 増加させる酵素活性を 1 azocoll unit とする。

●比活性 20 U/ μ g 以上

●一般的性質

- 本酵素は金属プロテアーゼである。
- 至適 pH： 7.0 ~ 8.0
- 至適温度： 37℃
- 阻害剤： 2-phenanthroline, EDTA
- 変性剤に対する安定性
 - 尿素 1 M 以下
 - Guanidinium salt 1 M 以下
 - SDS 0.01% 以下
 - アセトニトリル 10% (v/v) 以下

●参考文献

- 1) Noreau J and Drapeau G R. *J Bacteriol.* (1979) **140**: 911-916.
- 2) Drapeau G R. *J Biol Chem.* (1980) **255**: 839-840.
- 3) Geuss U, et al. *J Protein Chem.* (1990) **9**: 299-300.

●使用例：可溶性リゾチームの切断

可溶性リゾチーム (S-3-trimethylaminopropyl reduced lysozyme) を Endoproteinase Asp-N で切断し、逆相系 HPLC で分離 (図 1) 後、各ペプチドフラグメントのミノ酸配列分析により切断部位を同定した (図 2)。

反応条件

基質： 1 nmol
酵素： 0.25 μ g (約 10 pmol)
緩衝液： 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH8.0)
液量： 100 μ l
温度： 37℃
時間： 4 hours

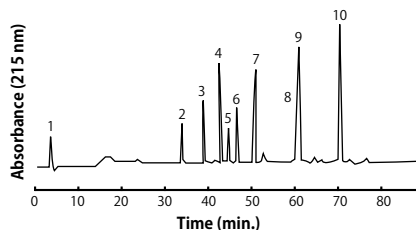


図 1. 可溶性リゾチームの Endoproteinase Asp-N 消化物の HPLC 分析

カラム： Nucleosil 5C₁₈-AR (4.6 ϕ $\times$ 150 mm)
溶媒 A： 0.05% TFA/H₂O
溶媒 B： 0.05% TFA/CH₃CN
溶出： 0 $\rightarrow$ 15% B/0 $\rightarrow$ 15 min.
15 $\rightarrow$ 27.5% B/15 $\rightarrow$ 65 min.
27.5 $\rightarrow$ 42.5% B/65 $\rightarrow$ 80 min.
流速： 0.5 ml/min.
検出： A₂₁₅



図 2. 可溶性リゾチームの Endoproteinase Asp-N による推定切断部位
各フラグメントの数字は HPLC (図 1) のピーク番号を示す。

結果

-X- $\downarrow$ Asp- 以外のペプチド結合の切断は認められなかった。

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。