

# $\alpha$ 2,3-Sialidase

**Code No. 4455**                      **Size :**            **5 U/ vial**  
**Conc. :**                              **50 U/ml**

**Note :**

The storage temperature of this product changed from -20°C to 4°C (Lot. N201AA-).

**Systematic name :** Acylneuraminyl hydrolase

**Enzyme code :** 3. 2. 1. 18

**Storage :**                            4°C

**Source :**

Cloned from *Salmonella typhimurium* LT2 and expressed in *Escherichia coli*.

**Form :**

Solution in 50 mM potassium phosphate (pH6.8), 0.1 M sodium chloride, and 0.02% sodium azide.

**Feature :**

This product is the cloned enzyme. It does not require divalent cation (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) or stabilizer (BSA etc.)<sup>1,2</sup>.

**Properties :**

Molecular weight : 41,300

Michaelis constant : Km=0.25 mM (4MUNeu5Ac)  
Km=2.66 mM (PA<sup>3</sup>- 3'-Sialyllactose)

Inhibitors : 2-deoxy-2,3-didehydro-N-acetylneuraminic acid  
Ki=0.38 mM

Stabilizer: Not necessary

Optimum pH : pH 5.5 - 7.0 (Tris-maleate buffer)  
pH 5.5 - 6.0 (potassium phosphate buffer, sodium acetate buffer, Tris-HCl buffer)

**Definition of activity :**

One unit is the amount of enzyme required to hydrolyze 1  $\mu$  mol of 3'-sialyllactose within 1 minute at 37°C at pH 5.5.

**Substrate specificity :**

- This sialidase has about 200-fold kinetic preference of the  $\alpha$  2, 3 sialyl linkage to the  $\alpha$  2, 6 sialyl linkage.<sup>1)</sup>
- The enzyme efficiently cleaves sialyl groups from glycoproteins and glycolipids.
- The enzyme can hydrolyze glycolipids without detergent.
- The enzyme may not release sialic acid from O-linked oligosaccharides on glycoproteins

**Quality Control Data :**

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

**References :**

- 1) Hoyer L L, Roggentin P, Schauer R, and Vimr E R. *J Biochem.* (1991) **110**: 462.
- 2) Hoyer L L, Hamilton A C, Steenbergen S M, and Vimr E R. *Mol Microbiol.* (1992) **6**: 873.
- 3) Warren L. *J Biol Chem.* (1959) **234**: 1971.
- 4) Kondo A, Suzuki J, Kuraya N, Hase S, Kato I, and Ikenaka T. *Agric Biol Chem.* (1990) **54**: 2169.

**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](http://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.

# $\alpha$ 2,3-Sialidase

Code No. 4455

容量： 5 U/vial

濃度： 50 U/ml

## 保存変更のお知らせ

本製品は Lot. N201AA より、保存温度が $-20^{\circ}\text{C}$ から $4^{\circ}\text{C}$ に変更になりましたのでご注意ください。

● 系統名 Acrylneuraminyl hydrolase

● 酵素番号 3.2.1.18

● 保存  $4^{\circ}\text{C}$

## ● 由来

Cloned from *Salmonella typhimurium* LT2 and expressed in *Escherichia coli*.

## ● 形状

溶液品 (0.1 M NaCl, 0.02% アジ化ナトリウムを含む 50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH6.8))

## ● 反応

シアル酸が糖鎖末端に $\alpha$ 2-3結合したシアロ糖複合体よりシアル酸残基を加水分解的に遊離する。

## ● 特長

本酵素はクローン体であり、反応時に2価カチオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) や安定化剤 (BSA など) の必要がない<sup>1,2)</sup>。

## ● 一般的性質

分子量： 41,300

ミカエリス定数：  $K_m = 0.25 \text{ mM}$  (基質：4MUNeu5Ac\*)

$K_m = 2.66 \text{ mM}$  (基質：PA-3'-Sialyllactose)

\* : 4MU : 4-Methylumbelliferyl

安定化剤： 特に必要なし

阻害剤： 2-deoxy-2,3-didehydro-N-acetylneuraminic acid

$K_i = 0.38 \text{ mM}$

至適 pH： 5.5 ~ 7.0 (Tris-maleate 緩衝液)

5.5 ~ 6.0 (リン酸カリウム緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液、Tris-HCl 緩衝液)

## ● 活性の定義

$37^{\circ}\text{C}$ 、pH5.5 において、3'-Sialyllactose から1分間に $1 \mu\text{mol}$ のシアル酸を遊離する酵素活性を1Uとする。

## ● 基質特異性

- $\alpha$ 2,3シアル酸結合を $\alpha$ 2,6結合に比べて約200倍速く切断する<sup>1)</sup>。
- 糖タンパク質や糖脂質からシアル酸残基を効率よく遊離させることができる。
- 界面活性剤非存在下でシアル酸を遊離させることができる。
- ムチン型O結合型糖鎖を持つ糖タンパク質からはシアル酸を遊離しない。

## ● 品質管理

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からダウンロードできます。

## ● 参考文献

- 1) Hoyer L L, Roggentin P, Schauer R, and Vimr E R. *J Biochem.* (1991) **110**: 462.
- 2) Hoyer L L, Hamilton A C, Steenbergen S M, and Vimr E R. *Mol Microbiol.* (1992) **6**: 873.
- 3) Warren L. *J Biol Chem.* (1959) **234**: 1971.
- 4) Kondo A, Suzuki J, Kuraya N, Hase S, Kato I, and Ikenaka T. *Agric Biol Chem.* (1990) **54**: 2169.

## ● 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。

v201810Da

# $\alpha$ 2,3-Sialidase

Code No. 4455

## Substrate specificity of $\alpha$ 2,3-Sialidase :

Substrate	Substrate concentration	Specific activity (U/mg)	Method*1
4MUNeu5Ac	1.05 mM	1067.8	1
3'-Sialyllactose	1 mM	N.T.*2	2
6'-Sialyllactose	1 mM	N.T.*2	2
Colominic acid	1 mg/ml	N.T.*2	2
PA-Sugar chain 029	2 $\mu$ M	1.81	3
PA-Sugar chain 030	2 $\mu$ M	N.D.*3	3
PA-Sugar chain 033 (discontinued)	2 $\mu$ M	1.36	3
PA-Sugar chain 036	2 $\mu$ M	0.92	3
PA-Sugar chain 022	2 $\mu$ M	$3.05 \times 10^{-3}$	3
PA-Sugar chain X	2 $\mu$ M	N.T.*2	3

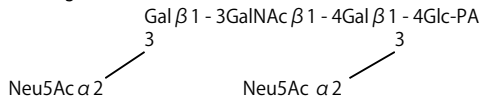
\*1: Refer to the other side.

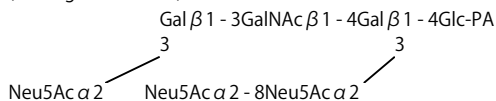
\*2: Not Tested (Lot. N201AA-)

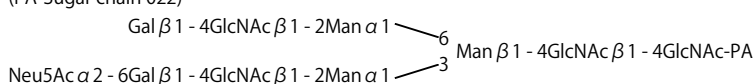
\*3: Not Detected

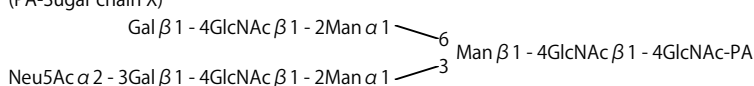
(PA-Sugar chain 029)  
Neu5Ac  $\alpha$  2 - 3Gal  $\beta$  1 - 4Glc-PA

(PA-Sugar chain 030)  
NeuGc  $\alpha$  2 - 3Gal  $\beta$  1 - 4Glc-PA

(PA-Sugar chain 033; discontinued)  
Gal  $\beta$  1 - 3GalNAc  $\beta$  1 - 4Gal  $\beta$  1 - 4Glc-PA  


(PA-Sugar chain 036)  
Gal  $\beta$  1 - 3GalNAc  $\beta$  1 - 4Gal  $\beta$  1 - 4Glc-PA  


(PA-Sugar chain 022)  
Gal  $\beta$  1 - 4GlcNAc  $\beta$  1 - 2Man  $\alpha$  1  


(PA-Sugar chain X)  
Gal  $\beta$  1 - 4GlcNAc  $\beta$  1 - 2Man  $\alpha$  1  


# $\alpha$ 2,3-Sialidase

Code No. 4455

## Method 1:

The reaction mixture is as follows:

<Reaction mixture>

2.1 mM 4MUNeu5Ac	] 3 $\mu$ l
50 mM Sodium acetate buffer (pH 5.5)	
100 mM NaCl	
Enzyme solution	3 $\mu$ l
Total volume	6 $\mu$ l

The reaction mixture is incubated for 10 minutes at 37°C, then 1.5 ml of 0.1 M glycine-NaOH buffer, pH 10.3 is added to 2.5  $\mu$ l of the reaction mixture to stop the reaction.

The amount of 4-MU released during the reaction is measured by using fluorescence photometer (Ex: 350 nm; Em: 448 nm).

## Method 2:

10  $\mu$ l of the enzyme solution is added to 90  $\mu$ l of the substrate in 0.1 M sodium acetate at pH 5.5. The reaction mixture is incubated for 10 minutes at 37°C.

The amount of released sialic acid is measured by TBA method<sup>3)</sup>.

## Method 3:

The reaction mixture is as follows:

<Reaction mixture>

10 $\mu$ M PA sugar chain <sup>4)</sup>	2 $\mu$ l
0.1 M Sodium acetate buffer (pH 5.5)	5 $\mu$ l
Enzyme solution	3 $\mu$ l
Total volume	10 $\mu$ l

The reaction mixture is incubated for 10 minutes at 37°C, then analyzed by HPLC.

<HPLC analysis condition>

Column:	PALPAK Type R (4.6 mm $\phi$ x 250 mm)
Solvent A:	50 mM acetic acid-triethylamine (pH 4.0)
Solvent B:	Solvent A containing 0.5% 1-butanol
Gradient:	0 $\rightarrow$ 50 min 0 $\rightarrow$ 50%B
Flow rate:	1.0 ml/min
Detection:	Fluorescence (Ex: 320 nm; Em: 400 nm)
Column temp:	40°C
Injection:	5 $\mu$ l

## Method 1

4MUNeu5Ac を基質として下記の条件で酵素反応を行う。

<反応液組成>

2.1 mM 4MUNeu5Ac	] 3 $\mu$ l
50 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.5)	
100 mM NaCl	
酵素溶液	3 $\mu$ l
合計反応液量	6 $\mu$ l

上記反応液を 37°C で 10 分間保持後、反応液 2.5  $\mu$ l に 0.1 M グリシン-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH10.3) 1.5 ml を加えて反応を停止する。励起波長 350 nm、測定波長 448 nm における反応液の蛍光強度を測定し、遊離した 4-メチルウンベリフェロンを、標準溶液の蛍光強度と比較することによって定量する。

## Method 2

基質を含む 0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.5) 中、酵素標品 10  $\mu$ l を加えて合計反応液量を 100  $\mu$ l とし、37°C で 10 分間保持後 TBA 法<sup>3)</sup> で遊離のシアル酸を定量する。

## Method 3

近藤らの方法<sup>4)</sup> によりピリジリアミノ化した糖鎖 (PA 化糖鎖) を基質として、下記の条件で酵素反応を行う。

<反応液組成>

10 $\mu$ M PA 化糖鎖	2 $\mu$ l
0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.5)	5 $\mu$ l
酵素溶液	3 $\mu$ l
合計反応液量	10 $\mu$ l

上記反応液を 37°C で 10 分間保持後、100°C で 3 分間加熱することで反応を停止し、HPLC 分析に供する。

< HPLC 分析条件 >

Column :	PALPAK Type R (4.6 mm $\phi$ x 250 mm)
Solvent A :	50 mM acetic acid-triethylamine (pH4.0)
Solvent B :	Solvent A containing 0.5% 1-butanol
Gradient :	0 $\rightarrow$ 50 min 0 $\rightarrow$ 50%B
Flow rate :	1.0 ml/min
Detection :	Fluorescence (Ex : 320 nm, Em : 400 nm)
Column temp :	40°C
Injection :	5 $\mu$ l

v201810Da