

Anhydrotrypsin Agarose

Code No. 7302

Size: 1 ml wet gel

Form :

Gel suspension in 50 mM sodium acetate buffer, pH 5.0, containing 20 mM CaCl₂ and 0.02% NaN₃

Description : Anhydrotrypsin Agarose is an affinity chromatography adsorbent that selectively adsorbs peptides with Arg, Lys, or AECys (S-aminoethyl cysteine) at the C-termini under mildly acidic conditions. It does not bind free amino acids, or peptides which have Arg, Lys, or AECys at sites other than the C-termini.

By use of this specific adsorbent, it is possible to isolate C-terminal peptide fragments from a protease digest of proteins.

Storage: 4°C

Do not keep the gel in elution buffer (such as HCl or formic acid solutions, pH 2.5) for extended periods.

Binding Capacity:

Soybean trypsin inhibitor binding capacity:

approx. 80 nmol/ml wet gel

Bz-Gly- Arg binding capacity:

approx. 60 nmol/ml wet gel

Note :

This product contains sodium azide as a preservative. Sodium azide reacts with many heavy metals to form explosive compounds. It is critical that a large amount of water be used when disposing.

References:

- 1) Ishii S, Yokosawa H, Kumazaki T, and Nakamura I. *Methods in Enzymology*. (1983) **91**: 378.
- 2) Kumazaki T, Nakako T, Arisaka F, and Ishii S. *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*. (1986) **1**: 100.
- 3) Yokosawa H, and Ishii S. *Anal Biochem*. (1979) **98**: 198.
- 4) Arisaka F, Nakako T, Kumazaki T, and Ishii S. *J Protein Chem*. (1987) **6**: 245.
- 5) Kumazaki T, Terasawa K, and Ishii S. *J Biochem*. (1987) **102**: 1539.

General Method:

1. Preparation of Sample Prior to Chromatography

- A protein sample is digested by trypsin (or by chymotrypsin). The reaction is terminated by adding DFP (diisopropyl fluorophosphate, final conc. 1 mM), and the pH of the digest is adjusted to 5.0 . No need to add 0.02 M CaCl₂
- The sample is kept to a smaller volume than the gel volume.
- The amount of protease digest to be applied to the agarose column should be determined by referring to the Bz-Gly-Arg binding capacity.
- Samples containing 2 - 4 M urea could be directly applied to the agarose column after adjusting to pH 5.0.

2. Method for chromatography

The following procedures should be done at 4°C.

1. The gel is put into a column, washed with 0.05 M sodium acetate buffer, pH 5.0, containing 0.02 M CaCl₂ (starting buffer). Washing volume should be over 20 - fold gel bed volume.
2. The sample is applied onto this column.
3. The column is washed with starting buffer (20 - fold of gel bed volume) at flow rate of about 17 ml/hr/cm². Peptides with Arg, Lys, or AECys C-terminal residues are adsorbed. Peptides with Arg-Pro or Lys-Pro at C-termini are not adsorbed though trypsin does not cleave such peptide bonds.
4. Peptides bound to the gel can be eluted by 5 mM HCl (approx. pH 2.5) or 0.1 M HCOOH (approx. pH 2.5). Sufficient recovery is achieved by elution with HCl or HCOOH at volumes of 10 - fold that of the gel.

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.

Anhydrotrypsin Agarose

Code No. 7302

容量： 1 ml wet gel

●形状

0.02 M 塩化カルシウムおよび 0.02% アジ化ナトリウムを含む 0.05 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.0) に懸濁。

●性質

C 末端アミノとして Arg、Lys、または AECys (S- アミノエチルシステイン) を有するペプチドを、弱酸性条件下で、選択的に結合する。(ただし遊離アミノ酸、ジペプチドおよび上記アミノ酸残基を C 末端以外の位置に有するペプチドは結合しない。)

●保存

0.02% アジ化ナトリウムを含む開始 Buffer で平衡化させ、4℃保存。ゲルを長期間 pH2.5 (0.1% ギ酸) に放置しておくことは避ける。

●結合容量

Soybean trypsin inhibitor binding capacity:

約 80 nmol/ml wet gel

Bz-Gly- Arg binding capacity:

約 60 nmol/ml wet gel

●取扱上の注意

本製品は防腐剤としてアジ化ナトリウムを含有しています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の高い金属アジドを生成することがあるので、廃棄の際は大量の水と共に洗い流してください。

●参考文献

- 1) Ishii S, Yokosawa H, Kumazaki T, and Nakamura I. *Methods in Enzymology*. (1983) **91**: 378.
- 2) Kumazaki T, Nakako T, Arisaka F, and Ishii S. *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*. (1986) **1**: 100.
- 3) Yokosawa H, and Ishii S. *Anal Biochem*. (1979) **98**: 198.
- 4) Arisaka F, Nakako T, Kumazaki T, and Ishii S. *J Protein Chem*. (1987) **6**: 245.
- 5) Kumazaki T, Terasawa K, and Ishii S. *J Biochem*. (1987) **102**: 1539.

●使用方法

1. サンプルの調製

- タンパク質を trypsin (または chymotrypsin) で消化する。
1 mM DFP (diisopropyl fluorophosphate) を加えて反応を停止し、酢酸を加えて pH5.0 に調整し、サンプル溶液とする。この際 0.02 M 塩化カルシウムを特に加える必要はない。
- サンプル液量はカラム体積程度以下に止めておく。
- サンプルに含まれるペプチド量 (タンパク質消化物のペプチド全量) の上限は、Bz-Gly-Arg に対する結合容量を参考にする。
- 2 ~ 4 M 尿素の混在するサンプルでも、pH5.0 に調整後、直接 Anhydrotrypsin Agarose カラムにかけることができる。

2. 操作方法

以下の操作はすべて 4℃で行う。

- 1) ゲルをカラムに充填し、ベット体積の 20 倍量 (20 カラム体積) 以上の開始 Buffer (0.02 M 塩化カルシウムを含む 0.05 M 酢酸ナトリウム緩衝液、pH5.0) で平衡化する。
- 2) サンプル溶液をゲル添加する。
- 3) ゲルを約 20 カラム体積の開始 Buffer で流速 17 ml/hr/cm² 程度で洗浄する。この操作により C 末端に Arg、Lys または AECys を有しないペプチドはカラムに結合せず溶出される。(trypsin は Arg-Pro、Lys-Pro 結合を切断しないが、このような部分を含むペプチドもカラムに結合しない。)
- 4) ゲルに結合したペプチドの溶出液として、5 mM 塩酸 (pH 約 2.5) または 0.1 M ギ酸 (pH 約 2.5) を用いる。通常 10 カラム体積程度流す。

●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。

v201812Da