

α 1,2-L-Fucosidase

Code No. 4451

Size:

2 U

[Note]

The Specification of this product has been changed.

(Lot.N 104AA -)

- Form is changed to solution from lyophilized powder.
- The storage temperature is changed to -20°C from 4°C.

Systematic name: α -L-Fucoside fucosyltransferase

Enzyme code: 3.2.1.51

Source: *Corynebacterium* sp.

Intended usage: Specific cleavage of α 1,2-L-fucoside bonds

Form:

Solution in 50 mM potassium phosphate pH 8.0, 0.5 mM EDTA and 0.025% sodium azide.

Storage: -20°C

Avoid repeated Freeze-thawed. If necessary, aliquot into separate tubes and store at -20°C.

Concentration: 20 U/ml

Substrate specificity:

- This enzyme releases L-fucose from 2'- α -L-fucosyl lactose (Fuc α 1-2Gal β 1-4Glc) and from porcine gastric mucin oligosaccharides.
- This enzyme also releases L-fucose from a biantennary *N*-acetylglucosamin type sugar chain with α 1,6-fucoside bond (PA-Sugar Chain 009; Cat. #4109), but at a much lower reaction rate (Table 1).

Definition of activity:

One unit is the amount of enzyme required to hydrolyze 1 μ mol of *p*-nitrophenyl- α -L-fucoside (*p*-NP-Fucose) within 1 minute at 37°C at pH 8.5.

Assay of activity:

Incubated 0.7 mM *p*-nitrophenyl- α -L-fucoside as a substrate in 90 mM PBS, pH 8.5, at 37°C for 10 min. Stop the reaction by adding 0.25 M sodium carbonate. Calculate the enzyme activity on the basis of the absorbance at 405 nm of the reactant.

Properties:

Molecular weight	: 43,000
Michaelis constant	: $K_m=4.7 \times 10^{-5}$ M (<i>p</i> -NP- α -L-fucopyranoside)
Inhibitors	: Ag^+ , Hg^{2+} and Cu^{2+}
Optimum pH	: pH 8.5 (37°C 10 min)
Optimum temperature	: 34°C (pH 8.5, 10 min)
pH stability	: pH 5.5 - 9.5 (25°C 60 min)
Thermal stability	: $\leq 26^\circ C$ (pH 8.0, 60 min)

Purity:

- Protease Contamination:
No protease activity is detected after incubating 2 mU of α 1,2-L-Fucosidase with 4 nmol of oxidized insulin B chain for 16 hours at 37°C in 0.15 ml of 100 mM Tris-HCl buffer at pH 8.0.
- Endoglycosidase Contamination:
No endoglycosidase activity is detected after incubating 50 mU of α 1,2-L-Fucosidase with 100 pmol of pyridylamino oligomannose type sugar chain (M6-PA) for 16 hours at 37°C in 10 μ l of 100 mM sodium acetate buffer at pH 5.0.
- Exoglycosidase Contamination:
No detectable α -galactosidase, β -galactosidase, α -mannosidase, β -*N*-acetylglucosaminidase and β -xylosidase activities when 20 mU of α 1,2-L-Fucosidase is incubated with 500 nmol of *p*-nitrophenyl glycoside for 16 hours at 37°C in 0.5 ml of 100 mM sodium acetate buffer at pH 5.0.
- α 1,3/4-L-Fucosidase Contamination:
No α 1,3/4-L-Fucosidase activity is detected after incubating 600 mU of α 1,2-L-Fucosidase with 20 pmol of pyridylamino lacto-*M*-fucopentaosell or III for 63 hours at 37°C in 10 μ l of 30 mM potassium phosphate buffer at pH 7.0. (Table 1)

References:

- 1) Sano M, Sakai T, Hayakawa K, and Kato I. *Glycoconjugate J.* (1991) **8**: 271.
- 2) Yamashita K, Totani K, Iwaki Y, Kuroki M, Matsuoka Y, Endo T, and Kobata A. *J Biol Chem.* (1989) **264**: 17873.
- 3) Amano J, Straehl P, Berger E, Kochibe N, and Kobata A. *J Biol Chem.* (1991) **266**: 11461.
- 4) Matsui T, Titani K, and Mizuochi T. *J Biol Chem.* (1992) **267**: 8723.

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.

α 1,2-L-Fucosidase

Code No. 4451

容量：

2 U

【仕様変更のお知らせ】

本製品は、Lot.N104AA より製品仕様が変更になりましたので、ご注意ください。

- ・形状が、凍結乾燥品から溶液品になりました。
- ・保存温度が、4°Cから-20°Cに変更になりました。

- 系統名 α -L-Fucosidase
- 酵素番号 3.2.1.51
- 由来 *Corynebacterium* sp.
- 反応 糖鎖中の α 1,2-L- フコシド結合を特異的に切断する。
- 形状 溶液品
[0.5 mM EDTA, 0.025% アジ化ナトリウムを含む 50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH8.0) 溶液]
- 保存 -20°C
凍結溶解の繰り返しは避ける。
必要に応じて小分け分注し、-20°C で保存する。
- 濃度 20 U/ml
- 天然基質に対する作用
2'- α -L-fucosyl lactose (Fuc α 1-2Gal β 1-4Glc) および porcine gastric mucin 由来のオリゴ糖から L-Fucose を遊離させることが確認されている。また、反応速度は非常に遅いが α 1,6- フコシド結合をもつパイアンテナ N-アセチルラクタサミン型糖鎖 [PA-Sugar Chain 009 (製品コード 4109)] にも作用して L-Fucose を遊離させる。¹⁾ (Table 1 参照)
- 活性の定義
37°C pH8.5 において *p*-Nitrophenyl- α -L-fucoside から 1 分間に 1 μ mol の *p*-Nitrophenol を遊離させる酵素活性を 1 U とする。
- 活性測定法
0.7 mM の *p*-Nitrophenyl- α -L-fucoside を基質として、90 mM リン酸ナトリウム緩衝液、pH8.5 中、37°C で 10 分間反応を行った後、0.25 M 炭酸ナトリウム溶液を加えて反応を止める。反応液の 405 nm における吸光度から酵素活性を算出する。
- 一般的性質
分子量 : 約 43,000
ミカエリス定数 : $K_m=4.7 \times 10^{-5}$ M (*p*-NP- α -L-fucopyranoside)
阻害剤 : Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+}
至適 pH : pH8.5 (37°C 10 min.)
至適温度 : 34°C (pH8.5, 10 min.)
pH 安定領域 : pH5.5 ~ 9.5 (25°C 60 min.)
熱安定領域 : 26°C 以下 (pH8.0, 60 min.)

●純度

1. 残存 Protease 活性
本酵素 2 mU と酸化インスリン B 鎖 4 nmol とを、100 mM トリス塩酸緩衝液 (pH8.0、最終液量 150 μ l) 中にて 37°C 16 時間反応させた反応液を、逆相系 HPLC で分析 (検出: A₂₁₅) した結果、基質 (酸化インスリン B 鎖) 以外のピークを認めなかった。
2. 残存 Endoglycosidase 活性
本酵素 50 mU とビリジリアミノ化オリゴマンノース型糖鎖 (M6, 製品コード 4118) 100 pmol とを、100 mM 酢酸緩衝液 (pH5.0、最終液量 10 μ l) 中にて 37°C 16 時間反応させた反応液を、逆相系 HPLC で分析 (検出: 蛍光 Ex: 320 nm, Em: 400 nm) した結果、基質 (糖鎖) 以外のピークを認めなかった。
3. 残存 Exoglycosidase 活性
本酵素 20 mU と各基質 500 nmol とを、100 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.0、最終液量 500 μ l) 中にて 37°C 16 時間反応させた後、1 M 炭酸ナトリウムで反応を停止し、405 nm における反応液の吸光度を測定した結果、吸収を認めなかった。
(使用基質) *p*-NP- α -D-Galactoside
p-NP- β -D-Galactoside
p-NP- α -D-Mannoside
p-NP- β -D-Xyloside
p-NP- β -N-Acetylglucosaminide
(*p*-NP-*p*-nitrophenyl)
4. 残存 α -1,3-L-Fucosidase および α -1,4-L-Fucosidase 活性
本酵素 600 mU と各基質 20 pmol とを、30 mM リン酸緩衝液 (pH7.0、最終液量 10 μ l) 中にて 37°C 63 時間反応させた反応液を、逆相系または順相系 HPLC で分析 (検出: 蛍光 Ex: 320 nm, Em: 400 nm) した結果、基質 (糖鎖) 以外のピークを認めなかった。(Table 1 参照)

●参考文献

- 1) 佐野 睦、酒井 武、加藤 郁之進 生化学 (1989) **61**: 1109.
- 2) Sano M, Sakai T, Hayakawa K, and Kato I. *Glycoconjugate J.* (1991) **8**: 271.
- 3) Yamashita K, Totani K, Iwaki Y, Kuroki M, Matsuoka Y, Endo T, and Kobata A. *J Biol Chem.* (1989) **264**: 17873.
- 4) Amano J, Straehl P, Berger E, Kochibe N, and Kobata A. *J Biol Chem.* (1991) **266**: 11461.
- 5) Matsui T, Titani K, and Mizuochi T. *J Biol Chem.* (1992) **267**: 8723.

●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

タカラバイオ株式会社

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999
Fax 077-565-6995

α 1,2-L-Fucosidase

Table 1 : Substrate specificity of α 1,2-L-Fucosidase

Substrate	Hydrolysis (%)		Specific activity (mU/mg)	Relative activity (%)
	1 mU/ 1 pmol (20 min)	30 mU/ 1 pmol (63 hr)		
PA-Sugar Chain 049 (Code #4149) Fuc α 1-2Gal β 1-4Glc-PA	100	100	52	100
PA-Sugar Chain 045 (Code #4145) Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow 3	0	0	0	0
PA-Sugar Chain 044 (Code #4144) Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow 4	0	0	0	0
PA-Sugar Chain 043 (Code #4143) Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA	45	100	0.78	1.5
PA-Sugar Chain 046 (Code #4146) Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow 4	0	0	0	0
PA-Sugar Chain 009 (Code #4109) Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1 Fuc α 1 \searrow 6 Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc-PA Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1 \nearrow 3	0	100	0.0032	0.006
PA-Sugar Chain 005 (Code #4105) Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1 Fuc α 1 \searrow 6 Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc-PA Gal β 1-4GlcNAc β 1 \searrow 4 Fuc α 1 \nearrow 3 Man α 1 \nearrow 2	0	0	0	0