

Protein disulfide-isomerase (PDI)

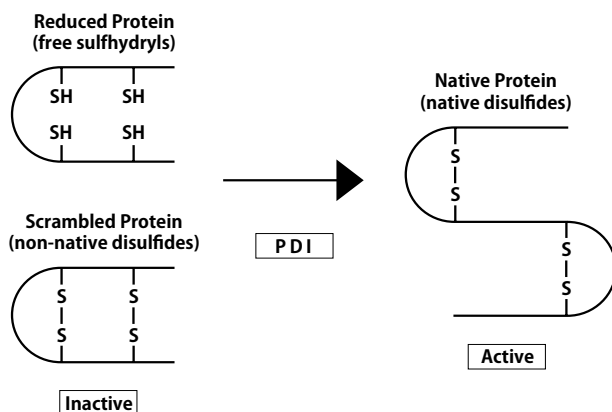
Code No. 7318

Size:

1 mg

Description:

This enzyme accelerates the exchange reactions between disulfide bonds in proteins in the presence of appropriate oxidizing or reducing reagents.



Source: Bovine liver

Form: Lyophilized white powder
(containing the amount equivalent to 200 μ l of 50 mM sodium phosphate buffer, pH 7.5)
Dissolve the content in 200 μ l of sterile purified water.

Storage: -20°C

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 unit of PDI is defined as the amount required to recover one RNase A unit from reduced bovine RNase A, at 25°C, pH 7.5 for 15 minutes. One RNase A unit is defined as the amount required for hydrolysis of cCMP (cytidine 2':3'-cyclic monophosphate) that results in an increase of 1×10^{-3} absorbance unit at 284 nm per minute.

Activity: > 300 U/mg protein

Properties:

Molecular weight: 107,000 (homodimer)
Isoelectric point: 4.2
Optimum pH: pH 7.0 - 9.0

Assay of activity:

<Principle>

Reduced bovine RNase A is treated with PDI in the presence of cCMP (cytidine 2':3'-cyclic monophosphate). Reactivation of RNase A is monitored by the absorbance at 284 nm.

<Protocol>

Reagents

- | | | |
|----|-----------|--|
| A. | 1 mg/ml | Reduced RNase A |
| B. | 0.2 M | Sodium phosphate buffer, pH 7.5 |
| C. | 20 mM | GSH (6.15 mg/ml) |
| D. | 2 mM | GSSG (1.23 mg/ml) |
| E. | 0.1 mg/ml | cytidine 2':3'-cyclic monophosphate/0.1 M MOPS, pH 7.0 |

Procedure

1. Mix 40 μ l of A, 100 μ l of B, 20 μ l of C and 20 μ l of D, then add 20 μ l of PDI (< 1 mg/ml) to the mixture.
2. Incubate at 25°C for 15 min.
3. Add 2.8 ml of E.
4. Measure the absorbance at 284 nm.
5. Incubate at 25°C for 3 min.
6. Measure the absorbance at 284 nm.

Calculations

$$\text{Activity (U/ml)} = \frac{\Delta A_{284} \times 10^3 \times \text{DF}}{\text{Rt} \times \text{Ev}}$$

ΔA_{284} : $\Delta A_{284} (\text{complete}) - \Delta A_{284} (-\text{PDI}) - \Delta A_{284} (-\text{reduced RNase A})$
DF: dilution factor
Rt: RNase A reaction time (3 min)
Ev: Amount of enzyme (0.02 ml)

Application:

Useful for refolding of proteins by exchange reactions between disulfide bonds.

References:

1. Goldberger R F, Epstein C J, and Anfinsen C B. *J Biol Chem.* (1964) **239**: 1406.
2. Lambert N and Freedman R B. *Biochem J.* (1983) **213**: 225.
3. Hillson D A, Lambert N, and Freedman R B. *Methods in Enzymology.* (1984) **107**: 281.
4. Tang J G, Wang C C, and Tsou C L. *Biochem J.* (1988) **255**: 451.

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.

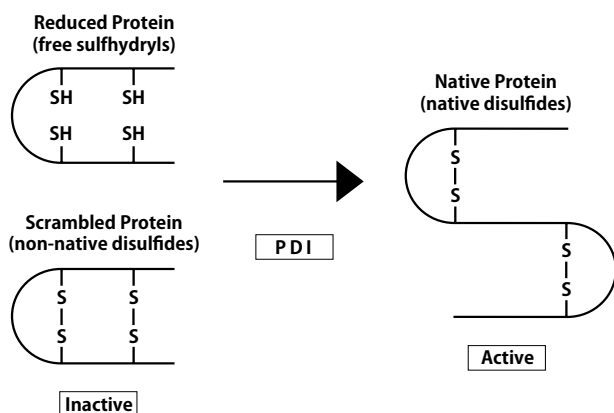
Protein disulfide-isomerase (PDI)

Code No.7318

容量： 1 mg

●製品説明

適切な酸化還元剤存在下でタンパク質のS-S架橋の組換えを促進する。



●酵素番号 EC 5.3.4.1

●由来 Bovine liver

●形状 凍結乾燥品
(50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH7.5、200 μ l 相当量を含有)
滅菌精製水 200 μ l に溶解して使用する。

●保存 - 20℃

●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。

●比活性 300 U/mg protein 以上

●活性の定義

pH7.5、25℃で15分間に1 RNaseA U*を回復させる酵素活性を1 Uとする。
*： cCMP (cytidine 2':3'-cyclic monophosphate) を基質として、pH7.5、25℃で1分間に284 nmの吸光度を0.001増加させる酵素活性を1 RNaseA Uとする。

●一般的性質

分子量： 107,000 (ホモダイマー)
等電点： 4.2
至適 pH： pH7.0 ~ 9.0

●活性測定

(使用する試薬)

- | | | |
|----|-----------|---|
| A. | 1 mg/ml | Reduced RNaseA |
| B. | 0.2 M | リン酸化ナトリウム緩衝液, pH7.5 |
| C. | 20 mM | グルタチオン (GSH) (6.15 mg/ml) |
| D. | 2 mM | 酸化型グルタチオン (GSSG) (1.23 mg/ml) |
| E. | 0.1 mg/ml | cytidine 2':3'-cyclic monophosphate/0.1 M MOPS, pH7.0 |

(操作手順)

1. A液 40 μ l、B液 100 μ l、C液 20 μ l、D液 20 μ l に 20 μ l の酵素溶液 (~1 mg/ml) を加える。
2. 25℃で15分間反応後、E液 2.8 ml を加え A₂₈₄ を測定する。
3. 25℃で3分間反応後、A₂₈₄ を測定する。

(計算式)

$$\text{PDI 活性 (U/ml)} = \frac{\Delta A_{284} \times 10^3 \times \text{DF}}{\text{Rt} \times \text{Ev}}$$

ΔA_{284} : $\Delta A_{284} (\text{complete}) - \Delta A_{284} (-\text{PDI}) - \Delta A_{284} (-\text{reduced RNase A})$
DF: 希釈率
Rt: 反応時間 (3 min.)
Ev: 酵素液量 (0.02 ml)

●用途

タンパク質のジスルフィド結合の組換えに有効

●参考文献

1. Goldberger R F, Epstein C J, and Anfinsen C B. *J Biol Chem.*(1964) **239**: 1406.
2. Lambert N and Freedman R B. *Biochem J.* (1983) **213**: 225.
3. Hillson D A, Lambert N, and Freedman R B. *Methods in Enzymology.* (1984) **107**: 281.
4. Tang J G, Wang C C, and Tsou C L. *Biochem J.* (1988) **255**: 451.

●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。