

α -1,3/4-L-Fucosidase

Code No. 4453 包装量: 100 μ U/100 μ l

系统名:

α -L-Fucoside fucohydrolase

酶编号:

3.2.1.51

起 源:

Streptomyces sp.142

贮存溶液:

50 mM	磷酸钾缓冲液 pH6.0
0.1 M	NaCl
0.02%	NaN ₃
0.1%	Brij-58

保 存:

4°C

反 应:

酶催化水解 α -fucoside 键并释放 L-fucose。

底物特异性:

- 该酶特异性切断 α 1,3-和 α 1,4-岩藻糖苷键。
- 该酶也能从 α 1-酸性蛋白中释放 L-Fucose。

特 性:

分子量: 40,000 (凝胶过滤法)

米氏常数:

$K_m=10.1 \mu$ M (PA-Lacto-N-fucopentaose II: 表 1, 底物 1)

$K_m=1.08 \mu$ M (PA-Lacto-N-fucopentaose III: 表 1, 底物 2)

最适 pH: pH6.0 (表 1, 底物 2)

pH 稳定范围: pH4.5-7.0 (37°C, 60 min)

稳定剂: 0.1% NP-40, 0.1% Brij-58 和 0.02% BSA

活性定义:

在 37°C, pH6.0 条件下, 1 分钟水解 1 μ mol 的 pyridylamino lacto-N-fucopentaose III 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

纯 度:

残存 Protease 活性:

10 μ U α -1,3/4-L-Fucosidase 同 4 nmol oxidized insulin B chain 在 20 μ l 150 mM 磷酸缓冲溶液 pH7.5 体系中, 37°C 反应 16 小时, 没有检测到 Protease 活性。

残存 Exoglycosidase 活性:

20 μ U α -1,3/4-L-Fucosidase 同 100 nmol *p*-nitrophenyl glycoside 在 0.1 ml 300 mM 磷酸缓冲溶液 pH6.0 体系中, 37°C 反应 16 小时, 没有检测到 α -galactosidase, β -galactosidase, α -mannosidase, β -xylosidase, β -N-acetylglucosaminidase 活性。

参考文献

- 1) Sano M, Hayakawa K, and Kato I. *J Biol Chem.* (1992) **267**: 1522-1527.
- 2) Kondo A, Suzuki J, Kuraya N, Hase S, Kato I, and Ikenaka T. *Agric Biol Chem.* (1990) **54**: 2169-2170.
- 3) Suzuki J, Kondo A, Kato I, Hase S, and Ikenaka T. *Agric Biol Chem.* (1991) **55**: 283-284.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政注册。

本文件由宝日生物技术(北京)有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v201902Da

表 1: α -1,3/4-L-Fucosidase 的底物特异性

No.	Substrate	Specific activity (mU/mg)	Relative activity (%)
1	PA-Sugar Chain 044 (Cat. #4144) Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow ⁴	819.2	100
2	PA-Sugar Chain 045 (Cat. #4145) Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow ³	460.9	56.3
3	PA-Sugar Chain 046 (Cat. #4146) Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow ⁴	68.5	8.36
4	Neu5Ac α 2-3Gal β 1-3GalNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow ⁴	0.106	0.01
5	Sialyl Lex Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GalNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow ³	0.101	0.01
6	PA-Sugar Chain 005 (Cat. #4105) Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1 \nearrow ⁶ Gal β 1-4GlcNAc β 1 \nearrow ³ Fuc α 1 \nearrow ³ Gal β 1-4GlcNAc β 1 \nearrow ² Man α 1 \nearrow ³ Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc-PA	201.3	24.6
7	PA-Sugar Chain 049 (Cat. #4149) Fuc α 1-2Gal β 1-4Glc-PA	0	0
8	PA-Sugar Chain 043 (Cat. #4143) Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA	0	0
9	PA-Sugar Chain 048 (Cat. #4148) GalNAc α 1-3Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA Fuc α 1 \nearrow ² Fuc α 1 \nearrow ⁴	0	0
10	PA-Sugar Chain 009 (Cat. #4109) Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1 \nearrow ⁶ Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1 \nearrow ³ Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc-PA Fuc α 1 \nearrow ⁶	0	0

PA: Pyridylamino (group) PA-Sugar chain was derivatized according to the method of Kondo *et al.*

应用实验 1: 使用 α -1,3/4-L-Fucosidase 酶切 PA-Sugar Chain

使用表 1 中的 PA-Sugar Chain 作为底物, 按下列反应操作。

· 反应液组成

10 μ M PA-Sugar Chain	2 μ l
500 mM 磷酸钾缓冲液 pH6.0	2 μ l
酶溶液	X μ l
灭菌水	6-X μ l
总计	10 μ l

· 操作步骤

反应液在 37°C 反应 30 分钟或 60 分钟, 加入 40 μ l 1% TFA 停止反应, HPLC 检测。

· 结果

Substrate (Number of Table I)	Amount of enzyme (μ U)	Cleavaged product	Rate of hydrolysis (%)	
			30 min	60 min
1	1	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA	100	100
2	1	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA	95	100
3	5	Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA	77	100
6	2		91	100
8	5	Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-PA	0	0

应用实验 2: 使用 α -1,3/4-L-Fucosidase 酶切糖蛋白

α 1-acid glycoprotein (α 1-AGP) 是血清糖蛋白, 分子量 44,000, 在这个分子中包含约 45% 的糖。这些糖链通过 *N*-糖苷键连接到 5 个作用于分子内的天冬酰胺残基上, 结构是 *N*-乙酰氨基型的二糖、三糖和四糖链。

由于岩藻糖以 α -1,3 键结合在三糖或四糖的非还原末端的 GlcNAc 上, 所以 α -1,3/4-L-Fucosidase 能将岩藻糖释放。

· 操作步骤

50 pmol α 1-AGP 和 25 μ U α -1,3/4-L-Fucosidase 在 10 μ l 包含 2 M 硫酸的 100 mM 磷酸钾缓冲溶液 pH6.0 体系中, 37°C 反应 20 小时, 加入 1% TFA 停止反应。

取出 20 μ l 反应液干燥, 使用 PALSTATION 对释放的岩藻糖进行 PA 化标记, HPLC 检测 PA-fucose [使用离子交换柱 (PALPAK Type A)]。

· 结果

通过加入硫酸作用于糖蛋白的酶活性显著提高

切断条件		L-Fucose 的释放量 (%)
酸水解*		100
酶切	(NH ₄) ₂ SO ₄ , (-)	11
	(NH ₄) ₂ SO ₄ , (+)	101

*: 4 M TFA, 100°C, 3 小时