

# rEGCase II

Code No. 4460

Size: 100 mU/50  $\mu$ l

## Description:

Endoglycoceramidase II (EGCase II) is an endo-type enzyme that cleaves linkages between oligosaccharides and ceramides of acidic and neutral glycosphingolipids, producing intact oligosaccharides and ceramide byproducts under detergent-containing conditions.<sup>1)</sup>

The enzyme does not act on galactosyl- and glucosyl-ceramides.

Furthermore, it does not degrade glycoacylglycerolipids or glycoproteins.

rEGCase II does not hydrolyze cerebrosides, sulfatides, sphingomyelin, glycoacylglycerolipids, or glycoproteins. The galactosylceramide linkage of gala-type glycosphingolipids is not hydrolyzed. Globo-type glycosphingolipids are strongly resistant to hydrolysis by rEGCase II. Given these properties, rEGCase II is well-suited for structural studies of glycosphingolipids.

Refer to Table 1 for substrate specificity.

## Storage:

at below -20°C

Repeated freezing and thawing will reduce enzyme activity. Keep the thawed enzyme at 4°C and use it within 2 - 3 days.

## Systematic name:

Oligoglycosylglucosyl-ceramide glycohydrolase (EC 3.2.1.123)

## Source / Unit Definition:

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

## Form: Frozen solution

20 mM	sodium acetate buffer, pH 6.0
0.2%	bovine serum albumin
0.1%	Lubrol PX

## Properties:

Optimal pH:	pH 5 - 6
Inhibitors:	1 mM of Hg <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , or Cu <sup>2+</sup>
	Not inhibited by Ba <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , or EDTA

## Assay Method:

5  $\mu$ l of the enzyme solution (diluted with 50 mM acetate buffer, pH 5.0 containing 0.4% Triton X-100) was combined with 5  $\mu$ l substrate solution containing 10 nmole asialo GM1 and 0.4% Triton X-100 in 50 mM acetate buffer, pH 5.0. The mixture was incubated at 37°C for 15 min. The reaction was terminated by adding 100  $\mu$ l of carbonate cyanide solution (i.e., Park-Johnson reagent). The reducing power derived from released oligosaccharides was measured by the method of Park and Johnson.<sup>2)</sup>

## Purity:

This enzyme is free of the following exoglycosidase activities:

$\alpha$ -galactosidase	$\beta$ -galactosidase
$\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase	$\beta$ -N-acetylgalactosaminidase
$\beta$ -N-acetylglucosaminidase	$\alpha$ -mannosidase
$\alpha$ -fucosidase	sialidase

This enzyme is free of endo- $\beta$ -N-acetylglucosaminidase, glycopeptidase, protease, and sphingomyelinase activities.

## Application Example:

Glycosphingolipids (50 nmol) are incubated with 3 - 15 mU of rEGCase II at 37°C for 16 hrs in 20 mM acetate buffer, pH 5.0 containing 0.4% Triton X-100.

The optimal concentration of detergent (Triton X-100, sodium cholate, or sodium taurodeoxycholate) is 0.2 - 0.4% (W/V) of the reaction mixture. Brij 58, Tween 20, and SDS inactivate rEGCase II.

## NOTE:

This product contains detergent and does not contain Activator II, so it can not be used on living cells.

## References:

- 1) Ito, M. and Yamagata, T. *J Biol Chem.* (1989) **264**: 9510.
- 2) Park, J. T. and Johnson, M. J. *J Biol Chem.* (1949) **181**: 149.

## 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.

# rEGCase II

Code No. 4460

容量 : 100 mU/50  $\mu$ l

## ● 製品説明

本製品は界面活性剤存在下で酸性および中性スフィンゴ糖脂質に作用し、糖鎖部分とセラミド部分の間を切断する酵素である。

本製品の特異性として、セラミドに結合した糖が単糖の場合、例えば、ガラクトシルセラミド、グルコシルセラミド、スルファチド等には作用しない。セラミドに結合する糖が二糖以上の場合もその還元末端がガラクトースの場合は作用しない。グロボシドには作用しにくい。また、グリセロ糖脂質、糖タンパク質には作用しない (Table 1. 参照)。

## ● 保存

-20°C以下

凍結融解により活性が低下するため、融解後は4°Cにて保存し、2~3日で使いきることが望ましい。凍結保存する場合は必要量を分注し凍結融解を繰り返さない。

## ● 系統名

Oligoglycosylglucosyl-ceramide glycohydrolase

## ● 酵素番号

3.2.1.123

## ● 起源/活性の定義

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。

## ● 形状凍結溶液品

20 mM sodium acetate, pH6.0  
0.2% bovine serum albumin  
0.1% Lubrol PX

## ● 一般的性質

適当 pH : pH5 ~ 6

阻害剤 : 1 mM の Hg<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup> で阻害される。

Ba<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、EDTA では阻害されない。

## ● 活性測定方法

0.4% Triton X-100 を含む 50 mM 酢酸緩衝液にて希釈した酵素溶液 5  $\mu$ l を、10 nmol のアシアロ GM1、および 0.4% Triton X-100 を含む 50 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.0) 5  $\mu$ l に添加する。37°C で 15 分間酵素反応を行わせた後、100  $\mu$ l の carbonate cyanide 溶液を加えて反応を停止し、Park and Johnson の方法<sup>2)</sup> で遊離されたオリゴ糖由来の還元力を測定する。

## ● 純度

本酵素において、以下の活性が検出限界以下であることを確認している。

$\alpha$ -Galactosidase	$\beta$ -Galactosidase
$\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase	$\beta$ -N-acetylgalactosaminidase
$\beta$ -N-acetylglucosaminidase	$\alpha$ -Mannosidase
$\alpha$ -Fucosidase	Sialidase
Endo- $\beta$ -N-acetylglucosaminidase	Glycopeptidase
Protease	Sphingomyelinase

## ● 使用例

50 nmol の糖脂質を 3 ~ 15 mU の rEGCase II と 20 mM 酢酸緩衝液 (0.4% Triton X-100 含有、pH5.0) で 37°C、16 時間反応させる。

## <使用する界面活性剤について>

0.2 ~ 0.4% の Triton X-100 およびコール酸ナトリウム、タウロデオキシコール酸ナトリウムが適している。Brij 58、Tween 20、SDS は使用できない。

## ● 使用上の注意

本製品は界面活性剤を含有し、また Activator II を含みませんので生細胞には使用できません。

## ● 参考文献

- 1) Ito, M. and Yamagata, T. *J Biol Chem.* (1989) **264**: 9510.
- 2) Park, J. T. and Johnson, M. J. *J Biol Chem.* (1949) **181**: 149.

## ● 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

# rEGCase II

**Table 1. Substrate Specificity of rEGCase II**

Name	Structure	Degradation (%)
<b>Ganglio series</b>		
GT1b	NeuAc $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-4(NeuAc $\alpha$ 2-8NeuAc $\alpha$ 2-3)Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
GD1a	NeuAc $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-4(NeuAc $\alpha$ 2-3)Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
GM1a	Gal $\beta$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-4(NeuAc $\alpha$ 2-3)Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
GM2	GalNAc $\beta$ 1-4(NeuAc $\alpha$ 2-3)Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
GM3	NeuAc $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
Asialo GM1	Gal $\beta$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-4Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
<b>Globo series</b>		
Gb5Cer	GalNAc $\alpha$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-3Gal $\alpha$ 1-4Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	19
Gb4Cer	GalNAc $\beta$ 1-3Gal $\alpha$ 1-4Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	10
<b>Neolacto series</b>		
IV <sup>3</sup> NeuAc $\alpha$ -nLC <sub>4</sub>	NeuAc $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
IV <sup>6</sup> NeuAc $\alpha$ -nLC <sub>4</sub>	NeuAc $\alpha$ 2-6Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
IV <sup>3</sup> NeuAc $\alpha$ III <sup>3</sup> Fuc $\alpha$ -nLC <sub>4</sub>	NeuAc $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
(Sialyl Lewis X)	3   1 $\alpha$ Fuc	
III <sup>3</sup> Fuc $\alpha$ -nLC <sub>4</sub>	Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
(Lewis X)	3   1 $\alpha$ Fuc	
<b>Lacto series</b>		
IV <sup>3</sup> NeuAc $\alpha$ -LC <sub>4</sub>	NeuAc $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-3GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
IV <sup>6</sup> NeuAc $\alpha$ -LC <sub>4</sub>	NeuAc $\alpha$ 2-6Gal $\beta$ 1-3GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
Lactosylceramide	Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-1'Cer	100
<b>Cerebrosides</b>		
Glucosyl ceramide	Glc $\beta$ 1-1'Cer	0
Galactosyl ceramide	Gal $\beta$ 1-1'Cer	0
Sulfatide	HSO <sub>3</sub> -3Gal $\beta$ 1-1'Cer	0

1.5 mU rEGCase II was incubated with the 10 nmol substrate for 16 hours at 37°C.