

SCDase

(Sphingolipid ceramide *N*-deacylase)

Code No. 4462

Size: 250 mU/50 μ l

Description:

SCDase (Sphingolipid ceramide *N*-deacylase) from *Pseudomonas* sp. hydrolyzes the *N*-acyl linkage between fatty acids and sphingosine bases in ceramide of various sphingolipid.¹⁾ The enzyme catalyzes the reverse reaction and transacylation, too.²⁾

The enzyme well acts on various acidic and neutral glycosphingolipids and sphingomyelin. But it does not well act on ceramide.

Source: *Pseudomonas* sp.

Form:

Solution in 50 mM sodium acetate pH6.0 containing 0.1% Lubrol PX

Storage:

Store at or below -20°C until use.

Once it thawed, it is recommended to dispense the solution and store at -20°C. Repeated freeze-thaw cycles should be avoided.

Properties:

Optimum pH: Hydrolysis pH5.0 - 6.0 (0.8% Triton X-100)

Reverse reaction pH7.0 (0.1% Triton X-100)

Inhibitors: Hg²⁺, Zn²⁺ and Cu²⁺.

The reaction is not inhibited by Mn²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ and EDTA.

Unit Definition:

One unit (U) of enzyme was defined as the amount needed to catalyze the hydrolysis of 1 μ mol of GM1 per minute.

Assay Method:

After 10 μ l of the reaction mixture including this enzyme, 2 nmol of GM1, 0.8% Triton X-100 and 50 mM acetate buffer, pH6.0 is incubated at 37°C for 15 min., it is analyzed by thin layer chromatography. GM1 and lyso-GM1 are visualized by spraying the TLC plates with orsinol-H₂SO₄ reagent and scanning them with image analyzer.

Purity:

It was confirmed that this enzyme is free from the following exoglycosidase activities:

α -galactosidase

β -galactosidase

α -*N*-acetylgalactosaminidase

β -*N*-acetylgalactosaminidase

β -*N*-acetylglucosaminidase

α -mannosidase

α -fucosidase

sialidase

The preparation did not show protease and sphingomyelinase activities.

Assay Method

1) Exoglycosidase contamination test:

No exoglycosidase activity was detected by HPLC analysis when 20 mU SCDase is incubated with 20 pmol of a pyridylamino oligosaccharide for 16 hrs. at 37°C, in 10 μ l of acetate buffer, pH6.0.

2) Protease contamination test:

No protease activity was detected after incubation of 50 mU SCDase with 40 μ g of casein labeled with resorufin for 16 hrs. at 37°C, in 40 μ l of acetate buffer, pH6.0.

3) Sphingomyelinase contamination test:

No sphingomyelinase activity was detected after incubation of 20 mU SCDase with 15 nmol of TNPAL-sphingomyelin for 16 hrs. at 37°C, in 55 μ l of acetate buffer, pH6.0.

References:

- 1) Ito M, Kurita T, and Kita K. *J Biol Chem.* (1995) **270**: 24370-24374.
- 2) Sueyoshi N, Izu H, and Ito M. *J Lipid Res.* (1997) **38**: 1923-1927.
- 3) Mitsutake S, Kita K, Okino N, and Ito M. *Anal Biochem.* (1997) **247**: 52-57.
- 4) Tani M, Kita K, Komori H, Nakagawa T, and Ito M. *Anal Biochem.* (1998) **263**: 183-188.
- 5) Mitsutake S, Kita K, Nakagawa T, and Ito M. *J Biochem.* (1998) **123**: 859-863.
- 6) Izu H, Kurita K, Sano M, Kato I, and Ito M. XIX International Carbohydrate Symposium Abstract Book. (1998) Aug: DP066.
- 7) Kurita K, Izu H, Sano M, Ito M, and Kato I. *J Lipid Res.* (2000) **41**: 846-851.

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.

SCDase

(Sphingolipid ceramide *N*-deacylase)

Code No. 4462

容量：250 mU/50 μ l

● 製品説明

本製品はスフィンゴ脂質に作用して、リソスフィンゴ脂質と脂肪酸を生成する酵素である¹⁾。さらに、リソ体と脂肪酸からスフィンゴ脂質を合成する縮合反応およびスフィンゴ脂質の脂肪酸を交換する反応も効率よく行うことができる²⁾。

基質特異性として、GM1、Globoside など、酸性および中性スフィンゴ糖脂質によく作用する。また、スフィンゴミエリンにもよく作用する。セラミドには作用しにくい。(Table 1 参照)

● 起源 *Pseudomonas* sp.

● 形状 溶液凍結品
50 mM 酢酸ナトリウム、pH6.0
0.1% Lubrol PX

● 保存 - 20℃以下
凍結融解は繰り返さない。融解後、必要量ずつ分注して、凍結保存することが望ましい。

● 一般的性質

酸性 pH、高濃度界面活性剤存在下では加水分解反応が優先的に進行し、中性 pH、低濃度界面活性剤存在下では縮合反応が優先的に進行する。

至適 pH： 加水分解反応 pH5.0 ~ 6.0 (0.8% Triton X-100)
縮合反応 pH7.0 (0.1% Triton X-100)
阻害剤： Hg²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺ で阻害される。
Mn²⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、EDTA では阻害されない。

● 活性の定義

下記の条件で1分間に1 μ mol の lyso-GM1 を生成する酵素活性を1 U とする。

● 活性測定方法

本製品、2 nmol の GM1、および0.8% Triton X-100 を含む50 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH6.0) 10 μ l の反応液を37℃で15分間インキュベートした後、反応液をTLCで展開する。オルシノール硫酸で糖脂質を発色させ、イメージアナライザーで分解率を測定する。

● 純度

α -Galactosidase	検出限界以下
β -Galactosidase	検出限界以下
α - <i>N</i> -acetylgalactosaminidase	検出限界以下
β - <i>N</i> -acetylgalactosaminidase	検出限界以下
β - <i>N</i> -acetylglucosaminidase	検出限界以下
α -Mannosidase	検出限界以下
α -Fucosidase	検出限界以下
Sialidase	検出限界以下
Protease	検出限界以下
Sphingomyelinase	検出限界以下

測定方法

1) 残存 Exoglycosidase 活性

本酵素 20 mU と 20 pmol のピリジリアミノ化オリゴ糖とを酢酸緩衝液 pH6.0、10 μ l 中にて37℃で16時間反応させた反応液を順相系 HPLC で分析した結果、基質 (ピリジリアミノ化オリゴ糖) 以外のピークを認めなかった。

2) 残存 Protease 活性

本酵素 50 mU と 40 μ g の標識カゼインとを酢酸緩衝液 pH6.0、40 μ l 中にて37℃で16時間反応させた結果、基質の分解を認めなかった。

3) 残存 Sphingomyelinase 活性

本酵素 20 mU と 15 nmol の標識スフィンゴミエリンを基質として酢酸緩衝液 pH6.0、55 μ l 中にて37℃で16時間反応させた結果、基質 (スフィンゴミエリン) の分解を認めなかった。

● 参考文献

- 1) Ito M, Kurita T, and Kita K. *J Biol Chem.* (1995) **270**: 24370-24374.
- 2) Sueyoshi N, Izu H, and Ito M. *J Lipid Res.* (1997) **38**: 1923-1927.
- 3) Mitsutake S, Kita K, Okino N, and Ito M. *Anal Biochem.* (1997) **247**: 52-57.
- 4) Tani M, Kita K, Komori H, Nakagawa T, and Ito M. *Anal Biochem.* (1998) **263**: 183-188.
- 5) Mitsutake S, Kita K, Nakagawa T, and Ito M. *J Biochem.* (1998) **123**: 859-863.
- 6) Izu H, Kurita K, Sano M, Kato I, and Ito M. XIX International Carbohydrate Symposium Abstract Book. (1998) Aug: DP066.
- 7) Kurita K, Izu H, Sano M, Ito M, and Kato I. *J Lipid Res.* (2000) **41**: 846-851.

● 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。

Table 1. Substrate Specificity of SCDase

Name	Structure	Hydrolysis (%) ¹⁾	Condensation (%) ²⁾
Ceramide	Cer	20	62
Glucosyl ceramide	Glc β 1-1'Cer	29	63
Galactosyl ceramide	Gal β 1-1'Cer	29	73
Sulfatide	HSO3-3Gal β 1-1'Cer	49	77
Lactosylceramide	Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	32	-
Asialo GM1	Gal β 1-3GalNAc β 1-4Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	63	-
Globopentaosylceramide (Gb5Cer)	GalNAc α 1-3Gal α 1-4Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	56	-
Globotetraosylceramide (Gb4Cer)	GalNAc β 1-3Gal α 1-4Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	45	-
GM3	NeuAc α 2-3Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	57	78
GM2	GalNAc β 1-4(NeuAc α 2-3)Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	75	82
GM1a	Gal β 1-3GalNAc β 1-4(NeuAc α 2-3)Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	58	75
GD3	NeuAc α 2-8NeuAc α 2-3Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	73	61
GD1a	NeuAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc β 1-4(NeuAc α 2-3)Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	54	75
GQ1b	NeuAc α 2-8NeuAc α 2-3Gal β 1-4(NeuAc α 2-3)Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer	56	-
V ² Fuc α -nLC ₆	Gal β 1-4GlcNAc α 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc β 1-1'Cer $\begin{matrix} 3 \\ \\ 1 \\ \\ 1 \\ \\ \alpha \text{Fuc} \end{matrix}$	59	-
Sphingomyelin	Choline phosphate- Cer	27	65

1) 2 mU of the enzyme was incubated with the 10 nmol substrate at 37°C for 16 hrs in 50 mM acetate buffer pH 6 containing 0.8% Triton X-100.

2) 0.02 mU of the enzyme was incubated with the 10 nmol substrate at 37°C for 16 hrs in 50 mM phosphate buffer pH 7 containing 0.1% Triton X-100.