

Pfu Methionine Aminopeptidase

Code No. 7335

Size: 20 mU (at 37°C)

Description:

This enzyme is a thermostable Methionine Aminopeptidase, which specifically liberates the N-terminal methionine residue from proteins and peptides.

Source:

Escherichia coli carrying plasmids encoding the *Pyrococcus furiosus* methionine aminopeptidase gene.

Form: 10 mM Tris-HCl, pH 7.5
0.01% Tween 20
0.1 mM CoCl₂

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.

Unit definition:

One unit of enzyme activity corresponds to the amount required to produce 1 μmol of Met from Met-Pro-Ala-Ala-Gly in 1 minute at pH 7.5.

Properties:

- Molecular weight: 32,848 (Mass spectrum analysis)
37,000 (SDS-PAGE)
- Optimum temperature: 85 - 95°C
- Thermal stability: This enzyme is stable at 75°C (pH 7.2, 1 hour, 0.5 mM Co²⁺).
- Optimum pH: 7.0 - 8.0
- Stable pH range: This enzyme is stable at pH 4.1 - 10.6 (75°C, 1 hour, 0.5 mM Co²⁺).
- Tolerance to denaturants: Stable against ≤ 2 M urea
≤ 0.2 M guanidine-HCl
≤ 0.01% SDS
- Activator: Co²⁺
- Inhibitor: EDTA

Substrate specificity:

X	Cleavage rate (100% with Met-Ala-Ala-Ala-Ala)
Ala	100
Gly	58
Ser	18
Thr	9.1
Pro	34
Val	2.9

The cleavage rate of Methionine was examined by using synthetic peptides Met-X-Ala-Ala-Ala (X ; 20 amino acids) as substrate.

Pfu Methionine Aminopeptidase does not react on other amino acids than the above (Cys, Asp, Asn, Leu, Ile, Gln, Glu, His, Met, Phe, Lys, Tyr, Trp, Arg).

Application example:

Liberation of N-terminal Methionine residue from recombinant human fibronectin fragment C281

(MW: 33,000, Met-Ala-Pro-Thr-Asp-Leu · · ·)

Reaction condition:

Substrate: 680 pmol
Enzyme amount: 2 mU
Reaction buffer: 10 mM PIPES buffer, pH 7.5, containing
0.2 mM CoCl₂
Reaction volume: 200 μl

Amino acid sequence was analyzed by a sequencer after incubation at 75°C for 5 hours.

Note:

It is necessary to denature the protein samples by chemical procedure such as carboxymethylation, prior to digestion with this enzyme.

References:

- 1) Ben-Bassat A, Bauer K, *et al. J Bacteriol.* (1987) **169**: 751.
- 2) Miller C G, Strauch K L, *et al. Proc Natl Acad Sci.* (1987) **84**: 2718.
- 3) Ben-Bassat A, Bauer K, *et al. Nature.* (1987) **326**: 315.
- 4) Yasueda H, Nagase K, *et al. Biotechnology.* (1990) **8**: 1036.
- 5) Tunasawa S, Izu Y, Miyagi M, and Kato I. *J Biochemistry.* (1997) **122**: 843-850.

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 6972 or from our website at www.takarabio.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.

Pfu Methionine Aminopeptidase

Code No. 7335 容量：20 mU (at 37°C)

● 製品説明

N末端アミノ酸がメチオニンであるペプチドおよびタンパク質からN末端メチオニン残基のみを特異的に遊離させる。

● 由来

Escherichia coli carrying plasmids encoding the *Pyrococcus furiosus* methionine aminopeptidase gene.

● 形状

10 mM Tris-HCl, pH7.5
0.01% Tween 20
0.1 mM CoCl₂

● 保存

-20°C

● 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からダウンロードできます。

● 活性の定義

Met-Pro-Ala-Ala-Glyを基質として、pH7.5で1分間に1 μmolのMetを遊離する酵素活性を1Uとする。

● 一般的性質

- 分子量：32,848 (質量分析)
約37,000 (SDS-PAGE)
- 至適温度：85 ~ 95°C
- 熱安定性：75°C (pH7.2, 1hr, 0.5 mM Co²⁺) でほぼ100%の活性を保持している。
- 至適pH：7.0 ~ 8.0
- pH安定領域：4.1 ~ 10.6 (75°C, 1hr, 0.5 mM Co²⁺) で100%の活性を保持している。
- 変性剤耐性：尿素：2 M以下
グアニジン塩酸塩：0.2 M以下
SDS：0.01%以下
- 活性化剤：Co²⁺
- 阻害剤：EDTA

● 基質特異性

X	Met-Ala-Ala-Ala-Alaを100%としたときの切断率(%)
Ala	100
Gly	58
Ser	18
Thr	9.1
Pro	34
Val	2.9

合成ペプチド Met-X-Ala-Ala-Ala (X: 20種アミノ酸) を基質に用いて、メチオニン切断率を調べた。

上記以外のアミノ酸 X (Cys, Asp, Asn, Leu, Ile, Gln, Glu, His, Met, Phe, Lys, Tyr, Trp, Arg) では Pfu Methionine Aminopeptidase は作用しない。

● 使用例

遺伝子組換えにより発現されたヒトフィロネクチンフラグメント C281 からの N末端メチオニンの除去 (分子量 33,000: Met-Ala-Pro-Thr-Asp-Leu...)

反応条件

基質：680 pmol
酵素：2 mU
溶媒：0.2 mM CoCl₂を含む10 mM PIPES 緩衝液 (pH7.5)
液量：200 μl

75°Cで5時間保温後、シーケンサーでアミノ酸配列分析

● 使用上の注意

試料タンパク質は、CM化などの化学的手法で変性させてください。

● 参考文献

- Ben-Bassat A, Bauer K, et al. *J Bacteriol.* (1987) **169**: 751.
- Miller C G, Strauch K L, et al. *Proc Natl Acad Sci.* (1987) **84**: 2718.
- Ben-Bassat A, Bauer K, et al. *Nature.* (1987) **326**: 315.
- Yasueda H, Nagase K, et al. *Biotechnology.* (1990) **8**: 1036.
- Tunasawa S, Izu Y, Miyagi M, and Kato I. *J Biochemistry.* (1997) **122**: 843-850.

● 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。

v202109Da