# Yatalase

**Code No. T017** **Size :** **2 g**

**Description :**
This product was prepared from lipuid culture supernatant of *Corynebacterium* sp. OZ-21. This product has complex lytic activies of fungal cell mainly consisting of chtinase and chitobiase activity.

**Origin :** *Corynebacterium* sp. OZ-21

**Appearance :** Lyophilized powder (containing lactose as the excipient)

**Storage :** 4℃, dry condition

**Unit definition :**
[ Chitinase activity ]
1 unit is defined as the amount of enzyme required to release 1 μmol of *N*-Acetylglucosamine from 0.5% chitin powder solution in 1 min at 37℃, pH 6.0.

[ Chitobiase activity ]
1 unit is defined as the amount of enzyme required to release 1 μmol of *p*-Nitrophenol from *p*-Nitropheny-*N*-acetyl- β -D-glucosaminide solution in 1 min at 37℃, pH 6.0.

[ Lytic activity ]
1 unit is defined as the amount of enzyme required to cause a 1% decrease in absorbance at 660 nm in 1 hour under the assay conditions described below.

Solutions
Solution A (Substrate solution) ;
Harvest a culture of *Aspergillus oryzae* (cultured in dextrin-peptone medium at 25 to 30℃ for 1 to 2 days) and homogenize on a Waring blender (16,000 rpm, 3 min). Subsequently,apply a French press process to produce fragments. Then,wash the fragments throughly with water over filter paper , and then with acetone, followed by diethyl ether. Air-dry the pellet and suspend in 0.1 M acetate buffer, pH 6.0, to give 0.125% (w/v).
Solution B (Enzyme solution);
Dissolve the enzyme in sterile purified water (0.8 mg/ml).

Assay system
1. Transfer 4 ml of solution A to a test tube.
2. Add 1 ml of solution B and immediately vortex.
3. Incubate at 37℃ by gently shaking for 1 hr.
4. Read the absorbance at 660 nm.

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

**Example of protoplast preparation :**

(1) *Aspergillus oryzae*
| | |
|---|---|
| Medium | Czapek-Dox + 0.5% Casamino acid (pH 5.6) |
| Culture | 30℃, 20 hr, Shake culture (Rotary at 140 rpm) |
| Conditions | 2% Yatalase solution |
| | 0.6 M $(NH_4)_2SO_4$ |
| | 50 mM Maleate Buffer (pH 5.5) |
| | 30℃ Reciprocal shaking (at 60 - 70 rpm) 2 - 3 hr |

(2) *Aspergillus kawachi*
| | |
|---|---|
| Medium | Same as in (1) |
| Culture | 30℃, 20 hr, Stationary culture |
| Conditions | Same as in (1) |

(3) *Aspergillus terreus, Penicillium citrinum, Penicillium lanosum, Tricoderma koningii*
| | |
|---|---|
| Medium | Dextrin-peptone (pH 5.5) |
| Culture | Same as in (1) |
| Conditions | Same as in (1) |

(4) *Mucor hiemalis, Rhizopus nigricans*
| | |
|---|---|
| Medium | 2% Malt extract |
| Culture | 30℃, 12 hr, Stationary culture |
| | (Sporangiospores in germ) |
| Conditions | 2% Yatalase solution |
| | 0.5 M $MgSO_4$ |
| | 50 mM Maleate Buffer (pH 5.5) |
| | 30℃ Reciprocal shaking (at 60 - 70 rpm) 4 hr |

(5) *Pleurotus ostreatus, Coprinus cinereus, Lentinus edodes*
| | |
|---|---|
| Medium | OSG or MYG medium (pH 5.5) |
| Culture | 25 - 30℃, 3 - 4 days, Stationary culture |
| Conditions | 2% Yatalase solution |
| | 0.6 M $MgSO_4$ |
| | 50 mM Maleate Buffer (pH 5.5) |
| | 30℃ Reciprocal shaking (at 60 - 70 rpm) 2 - 3 hr |

(6) Monascus sp.
| | |
|---|---|
| Medium | Same as in (3) |
| Culture | 25℃, 20 hr, Shake culture (Rotary at 140 rpm) |
| Conditions | Same as in (1) |

Manufactured by Ozeki corporation.



v201811

# Yatalase

**Code No. T017　　容量：　　2 g**

**●製品説明**
本製品は、*Corynebacterium* sp. OZ-21 の培養上清より調製された、キチナーゼ、キトビアーゼを主体とする複合酵素剤である。

**●由来**　*Corynebacterium* sp. OZ-21

**●形状**　凍結乾燥粉末（賦形剤として乳糖を含む）

**●保存**　4℃、乾燥状態で保存

**●活性の定義**
[ キチナーゼ活性 ]
37℃、pH6.0 において 0.5 % キチン溶液から 1 分間に 1 μmol の *N*-Acetylglucosamine を遊離する酵素活性を 1 U とする。

[ キトビアーゼ活性 ]
37℃、pH6.0 において *p*-Nitropheny-*N*-acetyl- β -D-glucosaminide 溶液から 1 分間に 1 μmol の *p*-Nitrophenol を遊離する酵素活性を 1 U とする。

[ 細胞壁溶解活性 ]
下記の条件で 1 時間に 660 nm における濁度を 1%減少させる酵素活性を 1 U とする。

測定試薬
試薬 A（基質液）；
*Aspergillus oryzae* 菌体（Dextrin-Peptone 培地、25 ～ 30℃で 1 ～ 2 日間振とう培養）をワーリングブレンダーでホモジナイズする（16,000 rpm, 3 分間）。次に菌糸体が小断片化するまでフレンチプレス処理を行い、ろ紙上で充分に水洗いした後、アセトンさらにジエチルエーテルで洗浄する。これを風乾したもの（細胞壁画分）を 0.125%になるように 0.1 M 酢酸緩衝液（pH6.0）に均一に懸濁し、基質液とする。
試薬 B（酵素液）；
0.8 mg/ml となるように滅菌精製水に溶解する。

測定手順
1. 試験管に A 液 4 ml をとる。
2. B 液 1 ml を添加し、すばやく試験管ミキサーで良く混合して 37℃で反応を開始する。
3. 1 時間おだやかに振とう後、660 nm の濁度をすばやく測定する。

**●品質管理**
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。

**●プロトプラスト調製条件例**
（1）*Aspergillus oryzae*
　培地　Czapek-Dox ＋ 0.5% Casamino acid（pH5.6）
　培養条件　30℃, 20 hr., Shake culture（Rotary at 140 rpm）
　調製条件　2% Yatalase solution
　0.6 M $(NH_4)_2SO_4$
　50 mM Maleate Buffer（pH5.5）
　30℃ Reciprocal shaking（at 60 ～ 70 rpm）2 ～ 3 hr.

（2）*Aspergillus kawachi*
　培地　Same as in（1）
　培養条件　30℃, 20 hr., Stationary culture
　調製条件　Same as in（1）

（3）*Aspergillus terreus, Penicillium citrinum, Penicillium lanosum, Tricoderma koningii*
　培地　Dextrin-peptone（pH5.5）
　培養条件　Same as in（1）
　調製条件　Same as in（1）

（4）*Mucor hiemalis, Rhizopus nigricans*
　培地　2% Malt extract
　培養条件　30℃, 12 hr., Stationary culture
　（Sporangiospores in germ）
　調製条件　2% Yatalase solution
　0.5 M $MgSO_4$
　50 mM Maleate Buffer（pH5.5）
　30℃ Reciprocal shaking（at 60 ～ 70 rpm）4 hr.

（5）*Pleurotus ostreatus, Coprinus cinereus, Lentinus edodes*
　培地　OSG or MYG medium（pH5.5）
　培養　25 ～ 30℃, 3 ～ 4 days, Stationary culture
　調製条件　2% Yatalase solution
　0.6 M $MgSO_4$
　50 mM Maleate Buffer（pH5.5）
　30℃ Reciprocal shaking（at 60 ～ 70 rpm）2 ～ 3 hr.

（6）*Monascus sp.*
　培地　Dextrin-peptone（pH5.5）
　培養条件　25℃, 20 hr., Shake culture（Rotary at 140 rpm）
　調製条件　Same as in（1）

**●製造元**　大関株式会社



v201811

タカラバイオ株式会社
ウェブサイト　http://www.takara-bio.co.jp
製品についての技術的なお問い合わせ先
**テクニカルサポートライン**
Tel　077-565-6999
Fax　077-565-6995