

Calpastatin

Code No. 7316

Size:

3 mg

Description :

Calpastatin is an endogenous protease inhibitor that acts specifically on calpain (a calcium-dependent cysteine protease). It contains four repetitive sequences composing of 120 to 140 amino acid residues, and an N-terminal non-homologous sequence.^{1,2)}

This product is highly purified recombinant human calpastatin domain 1, which consists of 135 amino acids (MW 14,000).^{1,3)}

Storage: -20°C

Form: Lyophilized white powder
(Reconstitute with sterile purified water.)

Quality Control Data :

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

Typical Activity :

50 nM of calpastatin domain 1 completely inhibits the activity of 7.5 µg/ml calpain I. 15 nM of calpastatin domain 1 inhibits 50% of the activity of 7.5 µg/ml calpain I.

References :

- 1) Asada K, Ishino Y, Shimada M, Shimojo T, Endo M, Kimizuka F, Kato I, Maki M, Hatanaka M, and Murachi T. *J Enzyme Inhibition*. (1989) **3**: 49-56.
- 2) Kanaki R and Murachi T. *Protein, nucleic acid and enzyme*. (1987) **32**: 116-129 (Japanese Journal).
- 3) Uemori T, Shimojo T, Asada K, Asano T, Kimizuka F, Kato I, Maki M, Hatanaka M, Murachi T, Hanzaw H, and Arata Y. *Biochem Biophys Res Comm*. (1990) **166**: 1485-1493.

Assay of activity :

Principle

The activity of calpastatin is analyzed as an inhibition activity against calpain.

Protocol

(Reagents)

- A. 1 mg/ml Calpain
- B. 2% Casein
- C. 6 mg/ml Cysteine
- D. 0.03 - 0.05 mg/ml Calpastatin in H₂O
- E. 50 mM CaCl₂
- F. 5% TCA

(Procedure)

1. Mix 1.5 µl of Reagent A, 40 µl of Reagent B, 20 µl of Reagent C, and 10 µl of Reagent D.
2. Incubate for 5 min at 37°C.
3. Add 20 µl of Reagent E and incubate at 37°C for 20 min.
4. Terminate the reaction by adding 200 µl of Reagent F.
5. Centrifuge, and read absorbance of the supernatant at 280 nm.
6. For controls, add H₂O instead of Reagent D (Blank 1) and also for Reagent D and E (Blank 2).

(Calculations)

Inhibition activity (µg calpain inhibited/µg Calpastatin)

$$= \frac{\Delta A_{280 \text{ Blank}} - \Delta A_{280 \text{ Test}}^*}{\Delta A_{280 \text{ Blank}}} \times \frac{\text{Calpain } (\mu\text{g})}{\text{Calpastatin } (\mu\text{g})}$$

$$\Delta A_{280 \text{ Blank}} = A_{280 \text{ Blank 1}} - A_{280 \text{ Blank 2}}$$

$$\Delta A_{280 \text{ Test}} = A_{280 \text{ Test}} - A_{280 \text{ Blank 2}}$$

* Adjust the concentration of calpastatin to give $\Delta A_{280 \text{ Test}} = 0.1 - 0.3$.

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.

Calpastatin

Code No. 7316

容量： 3 mg

●製品説明

本製品は、Calpain (カルシウム依存性システインプロテアーゼ) に特異的に作用する内在性のプロテアーゼインヒビターであり、120 から 140 アミノ酸残基よりなる 4 つの繰り返し配列と N 末端側の相同性のない配列からなっている。^{1,2)}

本製品は、ヒト Calpastatin のドメイン 1 を遺伝子組換え技術により生産し、高度に精製したもので、分子量約 14,000、135 アミノ酸残基よりなる。^{1,3)}

●保存 - 20℃

●形状 凍結乾燥品 (白色無定形粉末)
滅菌精製水に溶解後使用する。

●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のドキュメントセンターからダウンロードできます。

●標準活性

15 nM の Calpastatin ドメイン 1 は 7.5 μg/ml の Calpain I 活性を 50% 阻害する。また、50 nM の Calpastatin ドメイン 1 は 7.5 μg/ml の Calpain I 活性を完全に阻害する。

●参考文献

- 1) Asada K, Ishino Y, Shimada M, Shimojo T, Endo M, Kimizuka F, Kato I, Maki M, Hatanaka M, and Murachi T. *J Enzyme Inhibition*. (1989) **3**: 49-56.
- 2) 神奈木玲児, 村地孝 蛋白質 核酸 酵素 (1987) **32**: 116-129.
- 3) Uemori T, Shimojo T, Asada K, Asano T, Kimizuka F, Kato I, Maki M, Hatanaka M, Murachi T, Hanzaw H, and Arata Y. *Biochem Biophys Res Comm*. (1990) **166**: 1485-1493.

●活性測定

カゼインを基質とした時の Calpain 活性に対する阻害を以下の方法により測定する。

(使用する試薬)

- A. 1 mg/ml Calpain
- B. 2% Casein
- C. 6 mg/ml Cysteine
- D. 0.03 ~ 0.05 mg/ml Calpastatin in H₂O
- E. 50 mM CaCl₂
- F. 5% TCA

(操作手順)

1. A 液 1.5 μl、B 液 40 μl、C 液 20 μl、D 液 10 μl を混合し、37℃ で 5 分間放置する。
2. E 液 20 μl を添加し、さらに 37℃ で 20 分間放置後、F 液 200 μl を添加し、反応を停止させる。
3. 遠心分離した上清の 280 nm の吸光度を測定する。
4. ブランクテストは、D 液の代わりに H₂O を 10 μl (Blank 1)、D 液、E 液の代わりに H₂O を 30 μl (Blank 2) 添加し、上記と同じ操作で反応させ、280 nm の吸光度を測定する。

(計算式)

阻害活性 (μg Calpain inhibited/μg Calpastatin)

$$= \frac{\Delta A_{280 \text{ Blank}} - \Delta A_{280 \text{ Test}}}{\Delta A_{280 \text{ Blank}}} \times \frac{\text{Calpain}(\mu\text{g})}{\text{Calpastatin}(\mu\text{g})}$$

$$\Delta A_{280 \text{ Blank}} = A_{280 \text{ Blank 1}} - A_{280 \text{ Blank 2}}$$

$$\Delta A_{280 \text{ Test}} = A_{280 \text{ Test}} - A_{280 \text{ Blank 2}}$$

* : Δ A_{280 Test} が 0.1 ~ 0.3 の間になるように Calpastatin の濃度を設定する。

●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。

v201902Da