UbiQ Assay

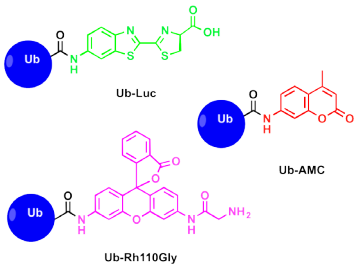
脱ユビキチン化酵素（DUB）活性測定用試薬

UbiQ社では、一般的なアミド結合型と、イソペプチド結合型の2種類の脱ユビキチン化酵素活性測定用試薬をご用意しております

amide based DUB activity assay reagents[1]

ユビキチンのC末端カルボキシル基と、レポーター分子のアミノ基がアミド結合を介して結合しており、脱ユビキチン化酵素（DUB）によって分解されると蛍光を発します。

Luc, Rh110, AMC read-out



specifications

AMC: exc/emi - 380/460nm
Rh110Gly: exc/emi - 485/535nm
LUC: exc/emi - 400/505nm

reagents

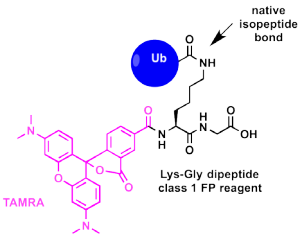
code	name
UbiQ-001	Ub-AMC
UbiQ-002	Ub-Rh110Gly
UbiQ-036	Ub-Luc

UbiQ-L03	DUB activity assay explorer panel (UbiQ-001, UbiQ-002, UbiQ-012, UbiQ-036)

isopeptide based fluorescence polarization (FP) DUB activity assay reagents[2]

ユビキチン(Ub)/ユビキチン様タンパク質（UbL）とTAMRA 標識ペプチドが、ネイティブのイソペプチド結合を介して結合しており、この状態では高分子量のために蛍光励起によって大きな偏光を示します。この試薬がDUBにより分解されると、標識色素はより小さい分子へ分解され、偏光度が小さくなります。本試薬は、DUB 活性をこのような偏光の違いによって検出できます。

class I FP



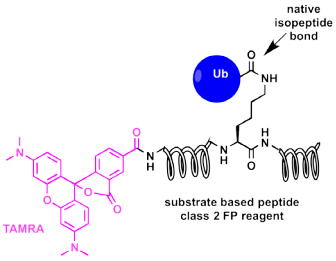
specifications

- **native isopeptide bond**
- high wavelength read out **exc/emi - 550/590 nm**
- proven in numerous industrial scale HTS campaigns

reagents

code	name
UbiQ-012	Ub-FP
UbiQ-019	Nedd8-FP
UbiQ-020	SUMO1-FP
UbiQ-021	SUMO2-FP
UbiQ-022	SUMO3-FP
UbiQ-073	ISG15-FP

class II FP



specifications

- **native isopeptide bond**
- high wavelength read out
- **exc/emi - 550/590 nm**
- proven in numerous industrial scale HTS campaigns
- **introduces substrate context**
- **custom design possible**

reagents

code	name
UbiQ-043	Ub-Ub(1-14)-FP K6 linked
UbiQ-044	Ub-Ub(4-17)-FP K11 linked
UbiQ-045	Ub-Ub(20-33)-FP K27 linked
UbiQ-046	Ub-Ub(22-35)-FP K29 linked
UbiQ-047	Ub-Ub(26-39)-FP K33 linked
UbiQ-048	Ub-Ub(41-54)-FP K48 linked
UbiQ-049	Ub-Ub(56-69)-FP K63 linked
UbiQ-029	K561(Ub) FANCD2 (557-565)-FP
UbiQ-030	K13 Ub-PTEN(5-21)-FP
UbiQ-038	K119 Ub-H2AX(115-143)-FP
UbiQ-039	K119 Ub-γH2AX (115-143)-Ser140(PO4)-FP

literature

1 (a) Dang et al. *Biochemistry* **1998**, *37*, 1868. (b) Mason et al. *Biochemistry* **2004**, *43*, 6535. (c) Hassiepin et al. *Analytical Biochem* **2007**, *371*, 201. (d) Orcutt et al. *Biochim Biophys Acta* **2012**, *1823*, 2079.

2 (a) Huang and Aulabaugh *Methods in Molecular Biology* **2009**, *565*, 127. (b) Tirat et al. *Analytical Biochemistry* **2005**, *343*, 244. (c) Geurink and El Oualid et al. *ChemBiochem* **2012**, *13*, 293. (d) Mevissen et al. *Cell* **2013**, *154*, 169.

→ **for a complete list of references we refer to the website or the product group overview.**

fact sheet, October 2014

UbiQ
targeting the ubiquitin system

Science Park 408, 1098 XH Amsterdam, The Netherlands info@ubiqbio.com +31 20 303 1970

www.ubiqbio.com

UbiQ Probes

活性部位反応型ＤＵＢプローブ

脱ユビキチン化酵素（DUB)用の活性部位反応型プローブは、多くのDUBの活性部位に存在するシステイン残基に反応するよう設計されており、ユビキチンのC末端にDUB阻害剤であるVME（vinyl-methyl ester）またはPA（propagylamide）が結合しています。（Figure 1）
UbiQ社ではVME（vinylmethyl ester）とPA（propagylamide）の2種類の反応基と、各反応基で4種類のN末端タグ（TAMRA、Cy5、biotin、HA--->Table 3）を付加したプローブ(Table 1)をご用意しております。

Figure 1

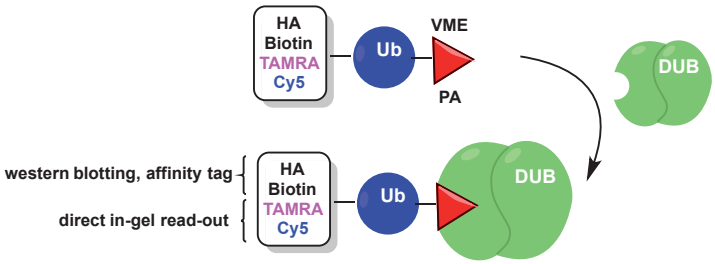


Table 1 - our range of DUB activity probes

	VME[1]		PA[2]	
tag	**code**	**name**	**code**	**name**
–	UbiQ-005	Ub-VME	UbiQ-057	Ub-PA
HA	UbiQ-035	HA-Ahx-Ahx-Ub-VME	UbiQ-078	HA-Ahx-Ahx-Ub-PA
Biotin	UbiQ-054	Biotin-Ahx-Ub-VME	UbiQ-076	Biotin -Ahx -Ub-PA
TAMRA	UbiQ-050	TAMRA-Ub-VME	UbiQ-058	TAMRA-Ub-PA
Cy5	UbiQ-071	Cy5-Ub-VME	UbiQ-072	Cy5-Ub-PA
	UbiQ-L02	DUB probe explorer panel (our full range of all 10 DUB activity probes)		

Table 2 – specifications of VME and PA warhead

VME	PA
targets USP and UCH DUBs	targets OTU, USP and UCH DUBs *
irreversible DUB inhibitor	irreversible DUB inhibitor which forms a covalent linkage that can be cleaved by acid treatment

* According to a proteomics study the PA probes also target DUBs of the Machado-Josephin Domain family. [2]

Table 3 – specifications of N-terminal tags

TAMRA[1a]	Cy5[1a]	Biotin[1]	HA[1]
fluorescence detection	fluorescence detection	affinity tag	affinity tag
• fast (in-gel) -, sensitive -, and distinct read-out. • no background labelling by cross reactivity as seen in immunoblots • exc 550 nm, abs 590 nm	• fast (in-gel) -, sensitive -, and distinct read-out. • no background labelling by cross reactivity as seen in immunoblots • exc 625 nm, abs 670 nm	• allows pull-down with biotin binding tools • strongest known non-co-valent interaction • detection by western-blot-ting	• allows pull-down with HA binding tools • influenza epitope tag • detection by western-blot-ting

literature

1 (a) de Jong et al. *ChemBioChem* **2012**, *13*, 2251. (b) Altun et al. *Chem Biol* **2011**, *18*, 1401.
2 Ekkebus et al. *J Am Chem Soc* **2013**, *135*, 2867. (b) Sommer et al. *Bioorg Med Chem* **2013**, *21*, 2511.

→ **for a complete list of references we refer to the product group overview document.**

fact sheet, October 2014

UbiQ targeting the ubiquitin system
Science Park 408, 1098 XH Amsterdam, The Netherlands info@ubiqbio.com +31 20 303 1970 www.ubiqbio.com

UbiQ Chains

全８種類の天然結合型DI-UBIQUITIN 鎖

UbiQ社は、全８種類の天然結合型ジユビチキン(di-ubiquitin) 鎖を製造している唯一のメーカーです。（Table 1, Figure 1） ユビキチン鎖はユビチキンC-端末と、他のユビチキン内の７種類のリシン残基（K6,K11,K27,K33,K48,K63）のいずれかがイソペプチド結合することで形成されます。またUbiQ社では、上記の7種類のユビチキン鎖に加え、他のユビチキンのN-末端と結合したリニア型のユビチキンもご用意しております。 (Fiure 2) それぞれのユビキチン鎖は細胞内で認識され、ユビキチンの結合パターンによって、 生理機能に関与するシグナルを変化します。そのような理由から、関連する生理的役割や作用機能を解明するためには、ユビキチンの全ての結合パターンを解析することが重要です。UbiQ社では、全種類の結合型をテストするのに便利なUbiQChains di-ubiquitin explorer panel をリーズナブルな価格で提供しております。

Table 1

UbiQ-code	product
UbiQ-013	K6 linked di-ubiquitin
UbiQ-014	K11 linked di-ubiquitin
UbiQ-015	K27 linked di-ubiquitin
UbiQ-016	K29 linked di-ubiquitin
UbiQ-017	K33 linked di-ubiquitin
UbiQ-033	K48 linked di-ubiquitin
UbiQ-034	K63 linked di-ubiquitin
UbiQ-070	linear linked di-ubiquitin
UbiQ-L01	di-ubiquitin explorer panel

Figure 1

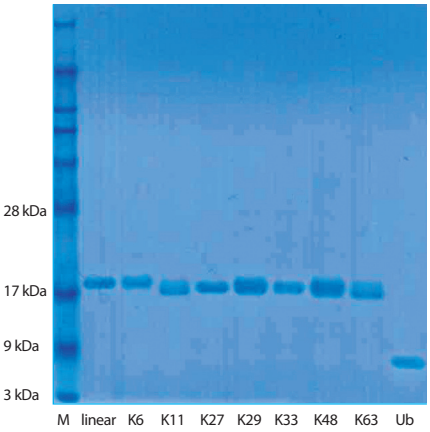
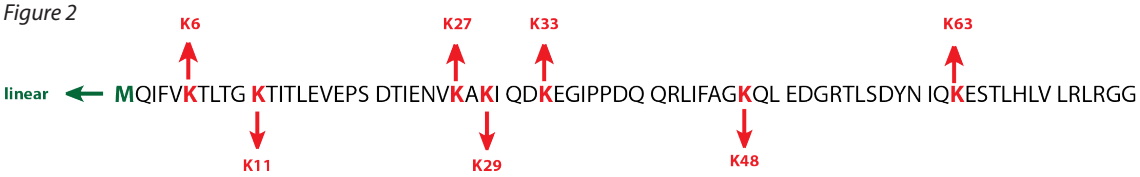


Figure 2



Applications

UbiQChains試薬は、2 個のユビキチン分子間のイソペプチド結合を切断するプロテアーゼである脱ユビキチン化酵素(DUB)基質として使用できます。また、ユビキチン結合モチーフを有するタンパク質の結合や認識のメカニズム研究にもご使用いただけます。

- DUB specificity
- immunization
- crystallography

Key features

- all linkages available
- native isopeptide bond
- native Ub sequence (i.e. no Lys-to-Arg mutations)

literature

1 El Oualid et al. *Angew Chem Int Ed* **2010**, *49*, 10149.
2 Dikic et al. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2010**, *10*, 659.
3 (a) Licchesi et al. *Nature Structural & Molecular Biology* **2012**, *19*, 62. (b) Faesen et al. *Chemistry & Biology*, **2011**,*18*, 1550.

→ **for a complete list of references we refer to the product group overview document.**

fact sheet, October 2014

UbiQ
targeting the ubiquitin system
Science Park 408, 1098 XH Amsterdam, The Netherlands info@ubiqbio.com +31 20 303 1970 www.ubiqbio.com