

重组肠激酶

Cat. No. : REK08

CAS: 9017-74-8

EC: 3.4.21.9

储存温度: -20°C或以下

来源: 重组牛肠激酶, 大肠杆菌表达

蛋白序列: 氨基酸序列与牛肠激酶轻链一致。

1. 产品简介

雅心重组牛肠激酶是一种高纯度的重组牛肠激酶轻链片段。该酶经 HPLC 纯化, 纯度高, 特异性高, 不含其他蛋白酶。肠激酶可以切割含有四个天冬氨酸的赖氨酸羧基端肽键: 天冬氨酸 - 天冬氨酸 - 天冬氨酸 - 天冬氨酸 - 赖氨酸 (DDDDK)。可以在较宽 pH 范围 (4.5-9.5) 和较宽温度范围内有效切割融合蛋白。肠激酶可去除位于蛋白质 N-末端的融合蛋白, 以除去不需要的融合标签。

2. 产品特性

来源	重组大肠杆菌
外观	澄清、无色至淡黄色液体
活性	≥ 5.0 U/μl
纯度 (蛋白电泳)	单一主条带
电泳 (分子量)	25.8 ±2.58 kDa

单位定义: 1U 定义为在 25°C, 12h~16h 之内, 将 0.5mg 保存于 25mM Tris-HCl 8.0 缓冲液中的融合蛋白切割 95%所需的酶量。

3. 推荐使用方法

1) 25°C 酶切条件:

按照酶活性定义, 酶切条件举例:

25mM Tris-HCl 8.0 体系中:

融合蛋白 0.1-1mg/ml (蛋白总量 50-100μg)

重组 EK 0.1-0.2U

25°C 过夜酶切, 或完全酶切需 12-16h, 用 SDS-PAGE 检测酶切效果。

2) 4°C 低温酶切条件:

4°C 能对底物进行有效酶切, 但需要将酶切时间延长至 48-64h, 或增加 2-3 倍酶量。

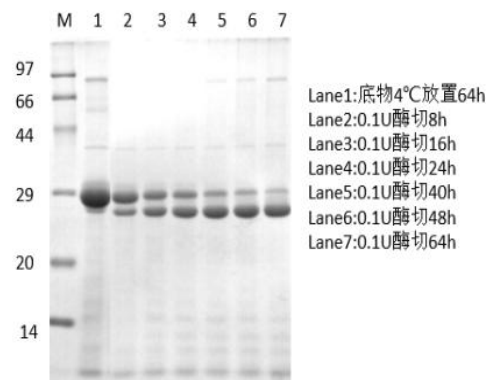
3) 酶切优化和放大

优化: 可以对酶切条件进行优化, 例如缓冲液 pH, 融合蛋白浓度, EK 的量, 以及酶切时间, 使融合蛋白能在稳定条件下被酶切, 用 SDS-PAGE 检测酶切效果。

放大: 选择优化后的反应条件, 按该条件等比例放大, 用 SDS-PAGE 检测酶切效果。

4) 去除重组肠激酶的方法: 使用胰蛋白酶抑制剂亲和层析 (例如 sigma T0637) 去除重组肠激酶。

5) 注意: 不建议 37°C 条件下酶切, 可能会有非特异性酶切出现。



4. 常见影响肠激酶活性的因素

在 >200mM 咪唑, 或 >200mM NaCl, 或 >5% 甘油, 酶切效果受影响。可参照以下推荐方法进行酶切:

1) 为获得理想酶切结果, 请将样品透析到 25mM Tris-HCl 8.0 缓冲液中, 再进行酶切。



仅供科研生产使用，不能用于人体。

2) 若不便透析，可将样品稀释，咪唑含量在 100mM 以下，NaCl 浓度在 50mM 以下，甘油浓度小于 5% 以下进行酶切，酶的用量与蛋白的比例不变（即 1U 酶切 500 μ g 蛋白）。

3) 如果样品溶液中含有上述成分中的一种或多种，且不便去除，此时适当增加酶量或延长酶切时间，也可达到较好酶切效果。

5. 储存和运输稳定性

酶液储存稳定性：-20 $^{\circ}$ C，24 个月稳定；25 $^{\circ}$ C，一周内，无活性损失。缓冲体系：50mM Tris-HCl, pH8.0, 250mM NaCl, 2mM Ca²⁺, 50%甘油。

酶液反复冻融稳定性：反复冻融 5 次，无活性损失。

运输稳定性：蓝冰保温运输，稳定。

6. 产品优势

特异性：特定的蛋白酶，切割前面含有四个天冬氨酸的赖氨酸羧基端位点：天冬氨酸 - 天冬氨酸 - 天冬氨酸 - 天冬氨酸 - 赖氨酸 (DDDDK)。

纯度高：不含其他蛋白酶，无非特异性切割。

无动物源性：重组生产，无外源性的病毒污染，生产过程不使用任何动物源原料。

质量稳定：批量生产，可保证稳定连续的批次生产；产品批次间无差异，质量稳定。

符合法规要求：生产设备和生产环境符合相关法规要求，生产过程完全遵循 NSF ISO 9001:2008 质量体系并符合 GMP 指导原则。

质量文件完整：按客户需求，可提供相关法规支持文件。

7. 相关产品

重组羧肽酶B；

序列分析纯胰蛋白酶；

重组人胰蛋白酶；

重组抑肽酶。