

Proteinase K

Cat#: MED12314

1. 产品描述

蛋白酶K是一种广谱性丝氨酸蛋白酶，我们的产品是从能够编码共附生白色侧齿霉菌内切蛋白酶的巴氏毕赤酵母细胞中提取的。

蛋白酶K是一种高活性的蛋白酶，可用于消化各种蛋白质和酶（包括核酸内切酶，核酸外切酶，DNA酶或RNA酶）。因此，它常用于DNA制备并且不损害提取DNA的完整性。它在各种不同的条件下具有优异的性能：不同的pH值，缓冲液，洗涤剂（如SDS），螯合剂（如EDTA）和温度。蛋白酶K优先水解邻近疏水性氨基酸（脂肪族，芳香族等）的羧基端的肽键。

除了基因组的分离之外，它还可以检测酶的定位或从DNA中去除酶以提高克隆效率。

蛋白酶K的合适工作浓度通常在0.05-1mg / mL的范围内。酶的活性可被0.2-1%SDS或1-4mol 尿素刺激。蛋白酶K可以被钙离子（1-5 mM）激活，尽管钙离子不影响酶的活性，但它有助于酶的热稳定性并保护蛋白酶免于自溶。蛋白酶K有两个Ca²⁺结合位点，位于活性中心附近，但不直接参与催化机制。所以钙离子对蛋白酶K的底物结合位点具有调节功能。蛋白酶K会被DIFP或PMSF灭活。然而，它不被EDTA，碘乙酸，胰蛋白酶特异性抑制剂TLCK，胰凝乳蛋白酶特异性抑制剂TPCK和对氯苯甲酸（p-chloromercuribenzoate）抑制。

我们建议工作的最佳pH值为7.5-8.0，最适温度为50-55°C。温度高于65°C时蛋白酶K会发生快速变性。您可以在95°C下作用10分钟使其热灭活。

2. 产品性质

Cas No.	39450-01-6
相对分子量:	29.3 kDa
来源:	基因重组毕赤酵母菌株
浓度:	>600 U/mL (approximately 20 mg/mL)
溶剂:	20 mM Tris-HCl, 1 mM CaCl ₂ , 50% Glycerol, pH 7.4
稳定性:	pH 范围: 4.0 to 12.5, 温度范围: 25°C to 65°C
储存条件:	-20°C保存, 避免反复冻融
酶活性值:	≥30U/mg冻干粉
比活性值:	≥40 U/mg 蛋白
纯度:	≥95% (Native-PAGE)

Proteinase K

Cat#: MED12314

3. 试验操作

以使用蛋白酶K从小鼠尾巴提取基因组DNA为例:

1. 将约0.5 cm的小鼠尾巴放入1.5ml微量离心管中。
2. 加入500 μ L裂解缓冲液 (例如50mM KCl, 50 mM Tris-HCl (p H 8.0), 2.5 mM EDTA, 0.45% NP-40 0.45% Tween-20) 。
3. 向试管中加入2.5 μ L蛋白酶K (20mg/mL) 并混合溶液。
4. 在55。C下孵育过夜。
5. (可选步骤) 在65°C下再孵育 1 小时。
6. 使试管涡旋并以13,000 rpm的转速旋转10秒钟。
7. 每50 μ LPCR混合物中吸取1 μ L上清液作为模板DNA用于基因分型。