

Протеиназа К

Версия 02 от 7 февраля 2022 г.

Протеиназа К – сериновая протеаза, обладающая широким спектром специфичности.

Фермент гидролизует пептидные связи со стороны карбоксильной группы ароматических, алифатических и гидрофобных аминокислот. Используется для очистки ферментативных смесей и клеточных лизатов от белковых примесей различной природы, для инактивации нуклеаз, а также для повышения эффективности лизиса тканей при выделении нуклеиновых кислот.

Протеиназа К выпускается в двух вариантах:

- В лиофилизированном виде с буфером для хранения;
- В растворе, готовом к применению.

Только для научно-исследовательских целей.

Состав и условия хранения

Кат. #	Состав	Кол-во единиц*
ЕК001	Протеиназа К лиофилизированная, 20 мг Буфер для хранения, 1.5 мл	600 е.а.
ЕК002	Протеиназа К лиофилизированная, 1 г Буфер для хранения, 50 мл	30 000 е.а.
ЕК004	Протеиназа К, 20 мг/мл, 1 мл	600 е.а.

*Единицы активности определяют по калибровочному графику, построенному по эталонным растворам L-тирозина с разной концентрацией. За одну единицу активности Протеиназы К принимают такое количество фермента (мкг), которое образует 1 мкмоль эквивалента тирозина при гидролизе денатурированного гемоглобина при 37 °С (рН 8.0) за 1 минуту.

Состав буфера для хранения: 20 мМ Трис-НСl рН 7.5, 1 мМ CaCl₂, 50% глицерол.

Хранение: –20 °С.

Транспортировка:

Ллиофилизированная (кат. ## ЕК001, ЕК002): при комнатной температуре;

В растворе (кат. # ЕК004): при –20 °С.

Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки – 1 год.

Основные свойства

- Отсутствует активность ДНКаз и РНКаз;
- Стабильность при pH от 4.0 до 12.0 (оптимум: 7.5–8.0);
- Температурный оптимум: 50–55 °С;
- Инактивируется при температуре выше 65 °С;
- Ингибируется фенилметилсульфонил фторидом (PMSF), диизопропилфторфосфатом (DFP), 4-(2-Аминоэтил)-бензолсульфонил фторид гидрохлоридом (AEBSF) и трихлоруксусной кислотой;
- Протеиназа К устойчива к ингибиторам трипсина.

Область применения

- Инактивирование эндогенных нуклеаз и улучшение лизиса ткани при выделении ДНК и РНК из животных тканей и клеточных культур;
- Удаление ДНКаз, РНКаз и других ферментов из реакционных смесей и лизатов;
- Подготовка срезов тканей для *in situ* гибридизаций.

Протокол

1. Подготовка фермента перед первым использованием

Приготовьте стоковый раствор Протеиназы К с концентрацией 600 е.а./мл (20 мг/мл):

- 1.1. Добавьте буфер для хранения в пробирку с лиофилизированной Протеиназой К в количестве:
ЕК001 – 1 мл;
ЕК002 – 50 мл.

1.2. Аккуратно перемешайте пипетированием, избегая пенообразования.

1.3. Инкубируйте 1–2 мин при комнатной температуре.

Хранение стокового раствора: при –20 °С .

2. Рекомендации по использованию

2.1. Подготовьте смесь реакционного буфера (см. п.3) и стокового раствора Протеиназы К. Рекомендуется использовать Протеиназу К в конечной концентрации 3 е.а./мл (допустимый диапазон: от 0.6 до 15 е.а./мл).

2.2. Внесите исследуемый образец в смесь реакционного буфера и Протеиназы К. Гомогенизируйте реакционную смесь.

2.3. Инкубируйте реакционную смесь при 50–55 °С . Время инкубации может варьироваться от 30 минут до 18 часов.

- 2.4. Для инактивации Протеиназы К дополнительно инкубируйте реакционную смесь 1 час при 65 °С или 10 минут при 95 °С.
- 2.5. После обработки Протеиназой К рекомендуется очистка ДНК:
- На магнитных частицах (например, CleanMag DNA, кат. ## BC35T/S/M/L, Евроген);
 - На колонках (например, набор Cleanup S-Cap, кат. ## BC041S/L, Евроген).

3. Рекомендации по составу реакционного буфера

- pH от 7.5 до 8.0;
- Денатурирующие агенты (для повышения активности Протеиназы К): 4М мочевины, 3М гуанидина гидрохлорида;
- Детергенты (для повышения активности Протеиназы К): 0.5–1% SDS (додецилсульфат натрия), 5% Твин 20, 1% Тритон X-100;
- Хелатообразующие агенты, такие как ЭДТА (для сохранения активности Протеиназы К);
- 4–5 мМ кальций (увеличивает термостабильность Протеиназы К, но не является необходимым компонентом реакционного буфера).

Наборы и сервисы Евроген

 – ссылка на страницу НАБОРА

 – ссылка на страницу СЕРВИСА

Выделение и очистка нуклеиновых кислот 

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ 

Синтез и амплификация кДНК  

Клонирование ДНК  

Выявление контаминации микоплазмой 

Оценка ДНК 

Нормализация кДНК  

Практикум по генной инженерии 

Генотипирование 

Синтез олигонуклеотидов и зондов 

Секвенирование по Сэнгеру 

NGS секвенирование 

Синтез генов 

Сайт-направленный мутагенез 

Консультация по продуктам: support@evrogen.ru

Подробную информацию о наших наборах и сервисах
можно получить на сайте www.evrogen.ru

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15
Тел.: +7 (495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru