

Протеиназа К

Кат. ## ЕК101, ЕК102, ЕК104

Версия 1 от 19 сентября 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*
ЕК101	Протеиназа К лиофилизированная, 20 мг Буфер для хранения, 1,5 мл	не менее 500 е.а.
ЕК102	Протеиназа К лиофилизированная, 1 г Буфер для хранения, 50 мл	не менее 20 000 е.а.
ЕК104	Протеиназа К (20 мг/мл), 1 мл	не менее 500 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 СаСl₂, 50% глицерол.

Хранение: –20 °С.

Транспортировка:

Ллиофилизированная (кат. ## ЕК101, ЕК102): при комнатной температуре.

В растворе (кат. # ЕК104): при –20 °С.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

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.
- Инактивируется при температуре выше 65.
- Ингибируется фенолметилсульфонил 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 20 мг/мл:

1.1. Добавьте буфер для хранения в пробирку с лиофилизированной Протеиназой К в количестве:

ЕК101 — 1 мл;

ЕК102 — 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. раздел 3) и стокового раствора Протеиназы К. Рекомендуется использовать Протеиназу К в конечной концентрации 0.1 мг/мл (допустимый диапазон: от 0.02 до 0.5 мг/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 (CleanMag DNA, кат. ## BC35 T/S/M/L, Евроген).
- На колонках (набор Cleanup S-Cap, кат. ## BC041 S/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





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   

Синтез органических соединений   

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