

# Recombinant Bovine Enterokinase, His, Expressed in Yeast

## 酵母表达重组牛肠激酶(His 标签)

### 产品简介

重组牛肠激酶 (rb-EK) 是一种高纯度的重组牛肠激酶轻链片段, 其氨基酸序列与牛源肠激酶轻链一致, 有着和天然提取的肠激酶同样特异的酶切位点, 切割位点是 Asp-Asp-Asp-Asp-Lys (DDDDK), 可用于去除位于蛋白 N-末端的融合蛋白, 以除去不需要的融合标签, 保障重组融合蛋白准确的 N 端序列, 同时重组牛肠激酶具有比天然酶更高的切割活性。翌圣酵母表达重组牛肠激酶 (His 标签) 为采用毕赤酵母分泌表达的高纯度、高活性、高特异的牛肠激酶, 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且在各种去垢剂和变性剂存在的条件下仍具有部分活性。本品带 His 标签, 在切割反应完成后, 可通过  $Ni^{2+}$  亲和柱轻松去除, 极大地简化了后续的纯化流程。

### 产品特点

**特异性强:** 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: Asp-Asp-Asp-Asp-Lys;

**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;

**产能充足:** 500L 发酵罐可获得~50 MU 肠激酶, 翌圣拥有 5L-1500L 不同体系发酵罐, 满足不同客户不同阶段对于产品批量要求;

**不同等级产品供应:** R&D 级别 (20395ES、20401ES)、GMP 级别 (20396ES、20400ES), GMP 级别产品符合 ISO 13485 质量管理体系。

### 产品应用

1、融合多肽和蛋白生产工艺中去除位于蛋白 N-末端的融合蛋白, 以除去不需要的融合标签, 保障重组融合蛋白准确的 N 端序列。如 DDDDK 是八肽 Flag 标签(DYKDDDDK)的一部分。rEK 的使用可以轻松去除融合蛋白的 Flag 标签, 是研究天然蛋白质结构和功能的理想工具。同时, 为天然蛋白质序列的放大生产, 也提供了便利和保障。

2、生物制药领域常用于 GLP-1 类似物多肽类药物的生产制备, 如司美格鲁肽、利拉鲁肽等。

### 产品信息

货号	20395ES60/76/90/92/94
规格	100 U/500 U/ 5000 U/100 KU/1 MU (1000 KU)

### 产品性质

来源 (Source)	毕赤酵母重组表达
分子量* (Molecular Weight)	理论值 22.7 kDa
外观 (Appearance)	无菌液体
蛋白保存液 (Storage Buffer)	50 mM Tris-HCl, 250 mM NaCl, 2 mM $CaCl_2$ , 50% Glycerol, pH8.0
酶浓度 (Enzyme Concentration)	5 U/ $\mu$ L
纯度 (Purity)	$\geq 95\%$

活性定义* (Activity Definition)	一个活性单位定义为 25°C条件下, 酶切 12-16 h, 在缓冲体系 (20 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 2 mM CaCl <sub>2</sub> , pH 8.0) 缓冲体系下, 将 50 μg 带有肠激酶酶切位点的融合蛋白 (翌圣肠激酶酶切阳性底物, 分子量约 64.6 KDa, Cat#20391ES) 切开 95% 所需要的酶量。
-----------------------------	---

分子量: \*由于毕赤酵母表达后糖基化的影响, SDS-PAGE 显示目的蛋白的分子量约 40 kDa。

活性定义: \*不同底物, 酶切效率可能不同; 一般蛋白越小, 切割效率越高, 翌圣酶活定义为采用分子量约 64.6 KDa 的大蛋白, 对于寡肽底物一般最大可达到 1U 切 500 ug。

## 储存条件

-15~-25°C保存, 有效期 2 年。

## 使用说明 (应用举例)

### 1. 反应体系:

融合蛋白	50 μg
肠激酶	0.1-1 U (可根据蛋白大小和实际情况进行调整)
缓冲体系 (20 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 2 mM CaCl <sub>2</sub> , pH 8.0)	Up to 50-500 μL (最终反应体系中蛋白浓度为 0.1-1 mg/mL)

### 2. 反应条件: 充分混匀, 25°C反应 16 h。

【注】重组肠激酶可使用 25 mM Tris-HCl pH 8.0 稀释成每 1 μL 含 0.1 U 的溶液使用。

## 注意事项

1. 该酶效力高, 且与待切蛋白序列或结构有关, 建议测试时先做蛋白投入量梯度, 以最适量投入为宜。
2. 以下条件可能对 rEK 的活性有一致作用:
  - 1) 高离子强度会抑制其活性。0.25 M NaCl 条件下, 降低 rEK 原活性的 25%左右; 2 M NaCl 条件下, rEK 几乎完全被抑制其活性。
  - 2) 抑制其活性试剂可能有, >2 M Urea, >20 mM b-ME, >0.1% SDS, >50 mM imidazole 等。
  - 3) pH<6 或 pH>9 条件也会抑制其活性。
3. 本产品仅作科研用途。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。