

Recombinant Bovine Enterokinase, Expressed in E.coli

大肠杆菌表达重组牛肠激酶(不带标签)

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。翌圣大肠杆菌表达重组牛肠激酶 (不带标签) 为采用大肠杆菌表达的高纯度、高活性、高特异的牛肠激酶, 不含其他蛋白酶, 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。本品不含标签, 由于具有极高酶切活性, 酶切反应使用量少, 不影响下游蛋白应用, 可不考虑除去。另外我司还提供酵母表达重组牛肠激酶(His 标签) (Cat#20395ES), 客户可根据来源 (大肠杆菌或酵母表达)、标签 (是否带 His 标签) 等选择适合您的重组牛肠激酶。

产品信息

货号	20401ES60 / 20401ES70 / 20401ES76 / 20401ES80 / 20401ES90
规格	100 U / 200 U / 500 U / 1000 U / 5000 U

产品性质

来源 (Source)	大肠杆菌表达
分子量 (Molecular Weight)	理论值 25.85 kDa
外观 (Appearance)	澄清、无色至淡黄色液体
酶浓度 (Enzyme Concentration)	≥5 U/uL
活性定义* (Activity Definition)	一个活性单位定义为 25°C, 12-16 h, 在 25 mM Tris-HCl, 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。
内毒素检测 (Endotoxin)	用 LAL 法测定内毒素含量小于 1 EU/μg
质量保证 (Quality assurance)	经多次柱纯化, SDS-PAGE 胶检测仅可见清晰单一的目的条带; 不含其他蛋白酶, 无非特异性切割
缓冲体系 (Buffer)	50 mM Tris-HCl, pH8.0, 250 mM NaCl, 2 mM Ca ²⁺ , 50% Glycerol

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, 翌圣酶活性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

-25~-15°C保存, 有效期 2 年。尽量避免反复冻融 (5 次以内, 无活性损失)

使用方法 (应用举例)

【注】该酶效力高且待切蛋白结构性质不同, 建议先进行预实验摸索酶使用浓度及酶切反应时间。

1. 反应体系

融合蛋白	50 µg
Enterokinase	0.1-1 U (可根据蛋白大小和实际情况进行调整)
缓冲体系 (25 mM Tris-HCl 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: 25°C 过夜酶切 (注: 完全酶切需要 16-24 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。

4°C 低温酶切条件: 4°C 能对底物进行有效酶切, 但需要延长酶切时间至 48-64 h 或者增加 2-3 倍酶量。

注意事项

1. 本产品所讲述的缓冲体系需要自行配置。
2. 不建议 37°C 条件下酶切, 可能会有非特异性酶切出现。
3. 在 >200 mM 咪唑, 或 >200 mM NaCl, 或 >5% 甘油, 酶切会受到影响。如果样品溶液中含有上述成分的一种或多种, 为获得理想的酶切结果, 请先将样品透析到 25 mM Tris-HCl 8.0 缓冲液中, 然后再进行酶切实验; 若不方便透析, 可将样品稀释到咪唑含量在 100 mM 以下, NaCl 浓度在 50 mM 以下, 甘油浓度小于 5% 以下进行酶切, 酶的用量与蛋白比例不变; 若干扰因素很多, 且不便去除, 需要适当增加酶量或延长酶切时间, 有助于得到理想的酶切效果。
4. 磷酸盐对 Enterokinase 有很强的抑制作用, 痕量的磷酸盐都会严重影响 Enterokinase 的活性, 因此在酶切体系内不能存在磷酸盐。
5. 本品是具有高酶活力重组肠激酶, 切割蛋白使用量少, 可不考虑除去。后续如需去除重组肠激酶, 可用阴离子交换树脂 (如 DEAE-FF) 对其进行洗脱。推荐洗脱条件如下:
平衡缓冲液: 25 mM Tris-HCl pH 8.0
洗脱缓冲液: 25 mM Tris-HCl pH 8.0, 含 100 mM NaCl
6. 蛋白酶切效果不好, 可适当增加酶量, 或适当延长酶切时间。
7. 本产品仅作科研用途。
8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。