

## Enterokinase, Recombinant, Expressed in E.coli 大肠杆菌表达重组肠激酶(不带标签)

### 产品简介

重组肠激酶 (rEK) 是一种高纯度的重组牛肠激酶轻链片段, 氨基酸序列与牛肠激酶轻链一致, 有着和天然提取的肠激酶同样特异的酶切位点, 切割位点 Asp-Asp-Asp-Asp-Lys, 可去除位于蛋白 N-末端的融合蛋白, 以除去不需要的融合标签, 同时重组肠激酶 (rEK) 具有比天然酶更高的切割活性。

翌圣重组肠激酶为采用重组大肠杆菌分泌表达的高纯度、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, 并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。

### 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 500 μg 带有肠激酶酶切位点的融合蛋白切开 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 <sup>2+</sup> , 50%甘油

### 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	0.05-0.1 mg (蛋白浓度: 0.1-1 mg/mL)
Enterokinase	0.1-0.2 U
缓冲体系	25 mM Tris-HCL 8.0

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。