



# 蛋白酶 K

(大量供应用于核酸提取纯化)-PCR 级

编号	规格	售价¥
ZB117S	50mg	320.00
ZB117M	1g	800.00
ZB117L	1Kg	70 万

蛋白酶 K 是一种枯草蛋白酶类的高活性蛋白酶，用于生物样品中蛋白质的一般降解。从林伯氏白色念球菌 (*triturachium album limber*) 中纯化得到。据资料显示：该酶有两个  $Ca^{2+}$  结合位点，它们离酶的活性中心有一定距离，与催化机理并无直接关系。然而，如果从该酶中除去  $Ca^{2+}$ ，由于出现远程的结构变化，催化活性将丧失 80% 左右，但其剩余活性通常已足以降解在一般情况下污染酸制品的蛋白质。所以，蛋白酶 k 消化过程中通常加入 edta (以抑制依赖于  $Mg^{2+}$  的核酸酶的作用)。但是，如果要消化对蛋白酶 k 具有较强耐性的蛋白，如角蛋白一类，则可能需要使用含有 1mmol/l  $Ca^{2+}$  而不含 edta 的缓冲液。在消化完毕后、纯化核酸前要加入 EDTA (pH8.0) 至终浓度为 2mmol/l, 以螯合  $Ca^{2+}$ 。

蛋白酶 K，是一种切割活性较广的丝氨酸蛋白酶。它切割脂族氨基酸和芳香族氨基酸的羧基端肽键。此酶经纯化去除了 RNA 酶和 DNA 酶活性。由于蛋白酶 K 在尿素和 SDS 中稳定，还具有降解天然蛋白质的能力，因而它应用很广泛，包括制备脉冲电泳的染色体 DNA，蛋白质印迹以及去除 DNA 和 RNA 制备中的核酸酶。蛋白酶 K 的一般工作浓度是 50—500  $\mu$ g/ml。在较广的 pH 范围内 (pH 4-12.5) 均有活性。

推荐反应缓冲液：50mM Tris-HCl (pH7.5), 10mM  $CaCl_2$ 。

20mg 蛋白酶 K 用 1ml 贮存液或 ddH<sub>2</sub>O 完全溶解, 不要涡旋混合，然后分装成小份贮存于 -20℃。贮存液：20mM Tris-HCl (pH7.5), 1mM  $CaCl_2$ ，50% 甘油, 0.03% Proclin300, 该配方在常温下可放置 2 周，酶活不会发生变化。

## 应用：

- 基因诊断试剂盒基因组 DNA 提取试剂盒
- RNA 提取试剂盒中去 DNARNA 制备中的核酸酶
- 提取组织中非蛋白成份降解含有蛋白质的杂质-譬如 DNA 疫苗和肝素的制备
- 蛋白酶 K 的一般工作浓度 50-500ug/ml

• 品名	• 蛋白酶 K/Proteinase K
------	----------------------

Add: Floor 2, Gate 6, 289#, Minqiang Road, Songjiang District, Shanghai 201612

Tel: +86-21-54460832

Fax: +86-21-54460831

Web: [www.synthesisgene.com](http://www.synthesisgene.com)

E-mail: [master@shinegene.org.cn](mailto:master@shinegene.org.cn)



• 来源	• 林伯氏白色念球菌 (Tritirachium album limber)
• 外观	• 白色冻干粉
• 比活	• >30U/mg 蛋白
• 分子量	• 29,730
• CAS No.	• 39450-01-6
• EC No	• 3.4.21.14
• 活性单位定义	• 37°C、pH 7.5 条件下, 每分钟可水解底物酪蛋白生成 1 $\mu$ mol 酪氨酸的蛋白酶 K 的量, 定义为一个单位 (U)。
• DNase 残留	• 以 $\lambda$ DNA 为底物, 37°C 消化 6 小时以上, 未检测到脱氧核糖核酸酶活性。
• RNase 残留	• 25°C 消化 16 小时以上, 未检测到核糖核酸酶活性。
• 失活方法	• 反应体系中加入 PMSF 或 DFP 抑制剂即可失活, 65°C 温育 10-15min 可部分失活

## 储存：

干粉状态可在 0~4°C 条件下低温保藏。溶解后分装为适当体积, -20°C 贮存。运输可在室温下进行。正确的贮存条件下, 干粉状态的有效期可达一年。液体状态在 -20°C 有效期为半年。打开包装使用后, 如果在 2~8°C 环境下放置超过一周时间, 建议过滤除菌或增加稳定剂如 0.5% 叠氮化钠, 防止微生物污染。

**贮存和稀释缓冲液:** 20mM Tris-HCl 缓冲液, 1mM CaCl<sub>2</sub> (pH 7.5), 0.03% Proclin300。

**反应条件:** 反应缓冲液中 37-56°C 温育 10-30min

## 推荐几种反应缓冲液:

Buffer1: 30 mM Tris-Cl(pH 8.0); 30 mM EDTA; 5% Tween 20; 0.5% Triton X-100; 800 mM GuHCl

Buffer2: 36 mM Tris-Cl(pH 8.0); 36 mM EDTA; 5% Tween 20; 0.36% Triton X-100; 735 mM GuHCl

Buffer3: 30 mM Tris-Cl(pH 8.0); 10 mM EDTA; 1% SDS

---

Add: Floor 2, Gate 6, 289#, Minqiang Road, Songjiang District, Shanghai 201612

Tel: +86-21-54460832

Fax: +86-21-54460831

Web: [www.synthesisgene.com](http://www.synthesisgene.com)

E-mail: [master@shinegene.org.cn](mailto:master@shinegene.org.cn)



**备注:**

- 1 蛋白酶 K 的推荐工作浓度为 0.05-0.5 mg/ml)。0.2%-1%SDS 或 1-4 M 尿素可刺激该酶的活性。
- 2 Ca<sup>2+</sup>可以保护蛋白酶 K 不会自我降解、增加蛋白酶 K 的热稳定性、调节蛋白酶 K 的底物结合位点。
- 3 在宽 pH 值 (4.0-12.5) 范围内保持稳定, 最佳 pH 值范围是 7.5-8.0。

**参考文献:**

1. Kraus, E; et.al. Proteinase K from the Mold *Tritirachium album limber*, Specificity and Mode of Action. *Z. Physiol. Chem.*, 357:939; 1976.
2. Jany,KD, et al. Amino Acid Sequence of Proteinase K from the Mold, *Tritirachium album limber*. Proteinase K; a Subtilisin-related Enzyme with Disulfide Bonds. *FEBS Letter*, 199,139.1986.
3. Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Volume 3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, B.16.
4. Sweeney, P.J. and Walker, J.M. (1993) *Enzymes of molecular biology*. In: *Methods in Molecular Biology*, Vol. 16, M.M. Burrell, ed., Humana Press, Inc., Totowa, NJ, 305.

**相关试剂耗材:**

核酸纯化柱  
Proclin300 防腐剂  
8 联磁棒套、96 联磁棒套  
1.5ml 旋盖样品管  
盐酸胍、异硫氰酸胍



**上海闪晶分子生物科技有限公司**

地址: 上海市松江区新桥镇民强路 289 号 6 号门 2 楼

邮编: 201612

联系: 市场部

电话: 021-54460832 800-988-1995

E-mail: master@shinegene.org.cn

网址: www.shinegene.org.cn

