

Gebrauchsanleitung

Proteinase K from Tritirachium album, solution

Cat. No. 33755

Produktbeschreibung:

Allgemein Proteinase K¹ ist eine unspezifische Serinprotease mit einem weiten Aktivitätsspektrum. Das Enzym zeigt einen hohen Grad an Sequenz-homologie mit der Subtilisin-Familie von Proteinasen. Es hat eine starke Aktivität gegenüber nativen und auch denaturierten Proteinen. Proteinase K hat keine ausgeprägte Spaltungsspezifität. Vorwiegend wird die Peptidbindung benachbart zur Carboxylgruppe aliphatischer und aromatischer Aminosäuren mit blockierten Aminogruppen gespalten.

Applikation

- Isolation hochmolekularer DNA
- Isolation von Plasmid- und genomischer DNA
- Isolation von RNA
- Inaktivierung von RNase- und DNase-Aktivitäten

Eigenschaften

- Gebrauchsfertig, flüssig, verdünnt in Aufbewahrungspuffer (20 mM Tris-HCl, pH 7,4, 1 mM CaCl₂, 50 % Glycerin).
- Bleibt bei Lagerung bei -20 °C flüssig
- Spez. Aktivität: >30 milliAnson-U/mg*, Konzentration: 20 mg/ml
- Frei von Exonuklease, Endonuklease und RNase Aktivität
- Molekulargewicht (M_r): 28390¹ (AA-Sequenz); 28500 (SDS-PAGE), Isoelektrischer Punkt (pI): 8,9²
- pH-Bereich: 7,5 – 12,0²

Stabilität und Lagerung Hohe thermale Stabilität, besonders in Gegenwart von Ca²⁺. Autolyse kann bei alkalischen pHs auftreten, unterdrückbar durch Ca²⁺-Ionen. Das Enzym wird bei saurem pH fortschreitend und irreversibel denaturiert. Im Aufbewahrungspuffer bei 4 °C oder -20 °C ist es sehr stabil. Wir empfehlen als Lagertemperatur -20 °C.

Aktivierung Für die Aktivierung wird 1 – 5 mM Ca²⁺ benötigt. Die Aktivität wird durch Inkubation bei erhöhten Temperaturen (i.e. 50 °C) verstärkt.

Inhibition Diisopropylfluorophosphat, Phenylmethylsulfonylfluorid² und Quecksilberionen. Proteinase K wird durch Metallkomplexbildner und Sulfhydrylinhibitoren nicht gehemmt.

Reaktionsbedingungen Für Nukleinsäurepräparationen wird eine Konzentration von 50 – 200 µg/ml Proteinase K bei pH 7,5 – 8,0 und 37 °C eingesetzt. Die Inkubationszeiten variieren von 30 Min. bis 18 Stunden.
Hinweis: Um das Produkt nötigenfalls vor der Anwendung vollständig zu lösen, Lösung auf 55 °C erhitzen und Temperatur für 15 – 45 Min beibehalten. Danach abkühlen und bei -20 °C lagern. Das Enzym behält s eine volle Aktivität.

***Einheitendefinition:** 1 U ist definiert als die Menge an Enzym, die Folin-positive Aminosäuren und Peptide entsprechend einem µmol Tyrosin unter Testbedingungen in 1 Minute bei Verwendung von Hämoglobin als Substrat freisetzt.

¹Betzel, C., Pal, G.P. and Saenger, W. (1988) Eur. J. Biochem. 178, 155-171.

²Ebeling, W., Hennrich, N., Klockow, M., Metz, H., Orth, H.D and Lang, H. (1974) Eur. J. Biochem. 7, 91-97.