

# PRODUKT- INFORMATION

**Proteinase K, rekombinant**

**Kat.-Nr. 33756**

## Produktbeschreibung:

**Allgemein** Rekombinante Proteinase K ist eine Subtilisin-verwandte Serinprotease. Es ist eine Endopeptidase mit einer sehr hohen spezifischen Aktivität und einem breiten Wirkungsspektrum. Das Enzym ist ein 28,9 kDa Protein, das in *Pichia pastoris* exprimiert wird. Es wird häufig für die Verdauung von Proteinen verwendet, einschließlich DNasen und RNasen während der Herstellung von Nukleinsäuren, ohne die Integrität der isolierten DNA oder RNA zu beeinträchtigen und ist in einer Vielzahl von Reaktionsbedingungen aktiv.

**Applikation**

- Inaktivierung von RNasen und DNasen während der Isolierung von DNA oder RNA aus Geweben oder Zellen
- Entfernung von Proteinverunreinigungen
- Verbesserung der Klonierungseffizienz von PCR-Produkten
- Bestimmung der Enzymlokalisierung an Membranen
- Entfernung von Nukleasen für die *In-situ*-Hybridisierung

**Eigen-schaften**

- Hochgereinigtes Lyophilisat
- Spezifische Aktivität: ungefähr 30 U/mg Protein
- Keine DNase- und RNase-Aktivität
- Breite Substratspezifität

**Lagerung** Empfohlene Temperatur für die Langzeitlagerung: - 20 ° C

**Aktivierung** Das Enzym wird durch Zugabe von 0,2 - 1% (w/v) SDS oder 4 M Harnstoff stimuliert. Die Gegenwart von Ca<sup>2+</sup> (1 - 6 mM) schützt das Enzym vor Autolyse schützt und erhöht die thermische Stabilität.

**Inhibition** Diisopropylfluorophosphat, Phenylmethylsulfonylfluorid<sup>2</sup> und Quecksilberionen. Proteinase K wird durch Metallkomplexbildner und Sulfhydrylinhibitoren nicht gehemmt.

**Reaktions-Bedingungen** Für Nukleinsäurepräparationen wird eine Konzentration von 50 – 200 µg/ml bei pH 7,5 – 8,0 und 37 ° C – 55 ° C eingesetzt. Die Inkubationszeiten variieren von 30 min bis 18 Stunden. pH-Bereich: 4,0 - 12,0 (optimale Aktivität bei pH 7,5 - 8,5) Temperaturbereich: 20 ° C - 65 ° C (optimal bei 50 ° C - 56 ° C

*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 seine 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.

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

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