

PRODUKT-INFORMATION

Proteinase K, rekombinant, NGS-Qualität

Kat.-Nr. 33757

Produktbeschreibung:

Allgemein Proteinase K ist eine Subtilisin-verwandte Serinprotease mit einer sehr hohen spezifischen Aktivität und einem breiten Wirkungsspektrum. Das Enzym ist ein 28,9 kDa Protein, exprimiert in *Pichia pastoris*. Es wird häufig für den Verdau von Proteinen, einschließlich DNasen und RNasen bei Nukleinsäurepräparationen verwendet, ohne die Integrität der isolierten DNA oder RNA zu beeinträchtigen. Ein zusätzlicher Aufreinigungsschritt ergibt eine 2,5fach erhöhte Löslichkeit, eine höhere spezifische Aktivität und einen äußerst geringen DNA-Gehalt, wodurch diese Präparation besonders geeignet ist für Methoden, die höchste Qualität erfordern wie Next Generation Sequencing (NGS).

Applikation

- Isolierung von Nukleinsäuren für PCR, RT-PCR, NGS
- Entfernung von Proteinverunreinigungen
- Verbesserung der Klonierungseffizienz von PCR-Produkten
- Bestimmung der Enzymlokalisierung auf Membranen
- Antigenrückgewinnung der In-situ-Hybridisierung

Eigen-schaften

- Hochgereinigtes Lyophilisat
- Spezifische Aktivität: min. 45 U/mg Protein, min. 35 U/mg Lyophilisat
- Keine DNase- und RNase-Aktivität
- DNA: $\leq 0,1$ pg/mg Enzym
- Löslichkeit in Wasser ≥ 50 mg/ml

Lagerung Empfohlene Temperatur für die Langzeitlagerung: - 20 ° C

Aktivierung

- Durch Zugabe von 0,2 - 1 % (w/v) SDS oder 4 M Harnstoff
- Erweiterte Stabilität durch Schutz vor Autolyse und erhöhte thermische Stabilität in Gegenwart von Ca^{2+} (1 - 6 mM)

Inhibition

- DFP, PMSF² and Quecksilber-Ionen
- Keine Hemmung durch Metallkomplexbildner und Sulfhydrylinhibitoren

Reaktions-Beding-ungen Wird üblicherweise in der Nukleinsäurepräparation in einer Konzentration von 50 - 200 µg/ml bei pH 7,5 - 8,0 und 37 ° C - 55 ° C verwendet. 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.