

PRODUKT INFORMATION

Trypsin Sequencing Grade, modifiziert

Art.-Nr. 37283

Produktbeschreibung:

Allgemein Trypsin Sequencing Grade, modifiziert ist eine Serin-Endopeptidase, die spezifisch an der Carboxylseite von Lysin-, Arginin- und S-Aminoethyl-Cystein-Resten spaltet. Die Spaltung an Arginin-Prolin- oder Lysyl-Prolin-Bindungen ist gering oder nicht vorhanden. Die Spaltung kann auch reduziert sein, wenn auf beiden Seiten einer potenziell anfälligen Bindung saure Reste vorhanden sind [1].

Anwendung Trypsin Sequencing Grade, modifiziert ist speziell für den Verdau von Proteinen vor der massenspektrometrischen Analyse bestimmt.

Eigenschaften

- Quelle: Schweinepankreas
- Reinheit: > 90 %
- Tryptische Aktivität: > 6000 U/g*
- Keine chymotryptische Aktivität nachweisbar
- Modifiziert durch reduktive Methylierung

Stabilität Trypsin Sequencing Grade, modifiziert, ist selbst bei pH-Werten im schwach basischen Bereich widerstandsfähiger gegen Autolyse (Tabelle 1). Daher kann das Enzym in hohen Konzentrationen im Verdauungsversuch verwendet werden.

Tab. 1: Stabilität von Trypsin Sequencing Grade, modifiziert und Trypsin nativ, nicht modifiziert in 20 mM Tris-HCl, pH 8,0 bei 37 °C.

Inkubationszeit [h]	Aktivität [%]	
	Trypsin Sequencing Grade, modifiziert (Art.-Nr. 37283)	Trypsin nativ, nicht modifiziert
0	100	100
3	100	43
5	87	30
7	84	25
22	46	5

Lagerungsbedingungen Trypsin Sequencing Grade, modifiziert sollte **trocken** bei -15 °C bis -25 °C gelagert werden.

Hinweise zum Gebrauch:

Allgemein Trypsin wird in der Proteomic routinemäßig für die Kartierung und Sequenzierung von Proteinen verwendet, da es eine hochspezifische Spaltung bewirkt, die zu einer begrenzten Anzahl tryptischer Peptide führt.

Verdauung von Proteinen in Lösung Lyophilisiertes Trypsin Sequencing Grade, modifiziert wird rekonstituiert in 25 µl 50 mM Essigsäure bis zu einer Endkonzentration von 1 µg/µl. Für den Verdau des Zielproteins wird Trypsin in einem endgültigen Protease:Protein-Verhältnis von 1:100 bis 1:20 (w/w).

In-Gel Proteinverdau Lyophilisiertes Trypsin Sequencing Grade, modifiziert wird rekonstituiert in 25 µl 50 mM Essigsäure. Dann werden 475 µl 25 mM NH₄HCO₃, pH 8 bis zu einer Konzentration von 50 µg/ml. Für die endgültige Verwendung wird die Trypsinlösung 1:2,5 mit 25 mM NH₄HCO₃, pH 8 und verwenden Sie 10 bis 20 µl für die Rehydratation / den Verdau jedes Gelstücks. Optional: Um eine Verstopfung des LC-Systems zu vermeiden, ist die Lösung vom In-Gel-Verdau durch Zentrifugation und Extraktion der Peptide, z. B. mit Essigsäure und Acetonitril.

[1] Wilkinson, J. M. (1986): Fragmentation of Polypeptides by Enzymatic Methods. In: Practical Protein Chemistry: A Handbook. A. Darbre, ed., John Wiley and Sons, New York, N.Y

*Einheitsdefinition: 1 U katalysiert die Hydrolyse von 1 N α -Benzol-L-arginin-4-nitroanilid-Hydrochlorid (BAPNA) pro Minute bei 30 °C, pH 8,0