

PRODUKT INFORMATION

Proteinase K, rekombinant

Kat.-Nr. 33756

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. Das rekombinante Präparat ist viel reiner als das native Enzym, da es sehr wenig DNA enthält, und eignet sich daher gut für die Isolierung von PCR- und RT-PCR-Templates.

Applikation

- Inaktivierung von Endo, Exo- und Ribonukleasen während der DNA/RNA-Isolierung
- 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. 30 U/mg Protein
- Keine DNase- und RNase-Aktivität
- DNA: ≤ 10 pg/mg Enzym
- Breite Substratspezifität

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, PMSF^2 and Quecksilber-Ionen
- Keine Hemmung durch Metallkomplexbildner und Sulfhydrylinhibitoren

Reaktions-Beding-ungen Wird üblicherweise in der Nukleinsäurepräparation in einer Konzentration von 50 - 200 $\mu\text{g/ml}$ 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.