

产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1-480 U	规格-2-2400 U
Enterokinase (16,000 U/mL)	RM20537	30 μ L	150 μ L
10X EK Reaction Buffer	RM20809	1 mL	1 mL*5

产品说明

肠激酶是一种特异性蛋白酶，它在赖氨酸的切割位点 Asp-Asp-Asp-Asp-Lys 之后进行切割。它有时会在其他碱性残基处切割，具体取决于蛋白质底物的构象。本产品是通过哺乳动物细胞表达的牛肠激酶短链，理论分子量约 29kd，采用 Strep 标签亲和纯化。

产品应用

从 N-末端和 Met-N-末端融合蛋白中去除标记肽；

蛋白质修饰和氨基酸序列测定。

保存条件

运输温度：长途运输采用干冰运输，或者干冰结合冰袋方式。请勿采用冰袋运输条件进行长途运输。

保存温度：-20°C 长期保存。

单位定义

1U 的定义是在 25°C 的总反应体积为 25 μ L 的情况下，在 16 小时内将 25 μ g 的含 EK 酶切割位点 (DDDDK) 特定底物切割至 95% 完成所需的酶的量。

酶储存液

20 mM Tris-HCl, 200 mM NaCl, 2 mM CaCl₂, 50% Glycerol, pH 7.2 @ 4°C

应用举例

向体系中加入 25 μ g 待处理样品，加入 2 μ L 10×EK Reaction Buffer，然后用超纯水补齐体系至 19 μ L，轻柔混匀。

加入 1 μ L Enterokinase 混匀，然后 25°C 孵育 16 h。

注：Enterokinase 可以采用 10×EK Reaction Buffer 缓冲液直接稀释至相应浓度。肠激酶受高盐浓度抑制。为获得最佳活性，NaCl 浓度应为 100mM 或更低。

缓冲液的 pH 值应介于 6 和 9 之间。酶需要 2 mM 钙才能发挥活性。

注意事项

- 250 mM NaCl 可将肠激酶活性降低至正常值的 75% 和 2 M NaCl 几乎完全抑制酶活性 (Barratti et al., 1973)。此外，在以下环境（尿素 > 2 M, β -巯基乙醇 (β -ME) > 20 mM, SDS > 0.1% , 咪唑 > 50 mM 和 pH < 6 or PH > 9) 中酶活性也会受到抑制。
- 对于特定的底物，最佳的孵育时间和酶浓度必须根据经验确定，因为酶切位点在不同的蛋白上会受到周围临近的空间位阻的影响，使得肠激酶的切割效率受到改变。