

V8 蛋白酶

Cat. No. : 66676-43-5

EC: 3.4.21.19

全名: 序列分析纯 V8 蛋白酶; 金黄色葡萄球菌 V8 蛋白酶

别名: V8 蛋白酶; 谷氨酰胺内切酶; 天冬酰胺内切酶

储存条件: 冻干粉, 2-8℃

来源: 基因工程生产, 大肠杆菌表达。

1. 产品简介

V8 蛋白酶属于丝氨酸蛋白酶家族, 能特异水解谷氨酸或天冬氨酸残基羧基侧肽键。在 pH 7.8 的 NH_4HCO_3 和 pH 4.0 的 $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 缓冲液中识别并切割 Glu 羧基端肽键, 在 pH 7.8 的磷酸盐缓冲液中识别并切割 Glu 或 Asp 羧基端肽键, 且对 Glu 的水解速率高于 Asp。V8 蛋白酶在 pH4.0-10.0 之间均有活性, 最适 pH 为 8.0-8.5。在进行蛋白质酶切测序、肽图谱分析和肽质量指纹图谱分析中使用, 可以单独使用或与其他蛋白酶混合使用。V8 蛋白酶的抑制剂有二异丙基氟磷酸 (DFP)、 α 2- 巨球蛋白和 $\text{N}\alpha$ -P-甲苯磺酰基-L-赖氨酸氯甲基酮 (TLCK)。

2. 产品特性

来源	重组大肠杆菌
产品外观	白色、类白色、类黄色粉末
比活	≥ 5.0 AU /mg pro.
蛋白电泳	单一主条带
分子量	24.0 ± 2.4 kDa

单位定义: 在 25℃, pH7.8 的条件下, 每分钟催化底物 (Z-Phe-Leu-Glu-4-nitranilide) 生成 1 μ mol 对硝基苯胺 (4-nitroaniline) 所需要的酶量为一个酶活性单位。

比活性: 25℃时, 以 Z-Phe-Leu-Glu-4-nitranilide 为底物测得的活性约为 20 U/mg pro. (对应于 37℃时, 以酪蛋白为底物的活性约为 500 U/mg pro)。

3. 储存和运输稳定性

储存稳定性: 重组 V8 蛋白酶冻干粉存于 2-8℃, 24 个月稳定;

溶解后稳定性: 用水或 50mM Tris-HCl pH8.0 溶解以后存于 -20℃ 以下 (1mg/ml), 6 个月稳定; 用水或 50mM Tris-HCl pH8.0 溶解以后存于 4℃ (1mg/ml, 无菌), 2 个月稳定; 用 50mM Tris-HCl pH8.0 溶解以后存于 25℃ 或 37℃ (0.5mg/ml) 12h, 活性可维持 85% 以上; 溶解后溶液可反复冻融 10 次无活性损失。

运输稳定性: 蓝冰保温运输, 活性稳定。

4. 推荐使用方法

1) 使用前注意

可按使用量分装以最大限度避免污染或自切。

2) 目的蛋白溶解

用酶切 buffer 溶解目的蛋白, 例如 25-50mM NH_4HCO_3 pH7.8, 若溶解度不好对目的蛋白变性, 添加尿素、SDS、DTT 或加热。尿素和 SDS 对 V8 蛋白酶的影响见表一。

3) 酶切

V8 蛋白酶和目的蛋白推荐比例为 1/20-1/100 (W/W), 25℃ 或 37℃ 酶切 2-18h。

表一：V8蛋白酶在含有不同浓度变性剂，尿素25℃2h，SDS25℃12h的稳定性
(注：V8蛋白酶0.5mg/ml，50mM Tris-HCl pH8.0)

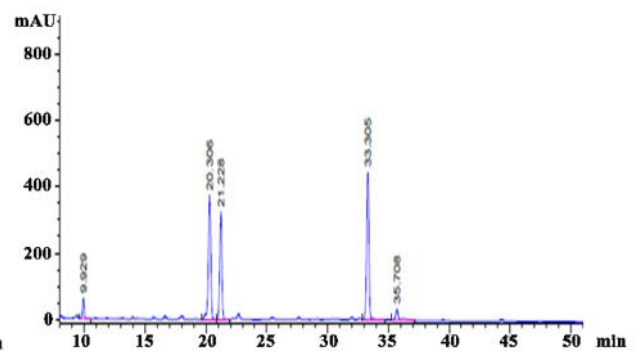
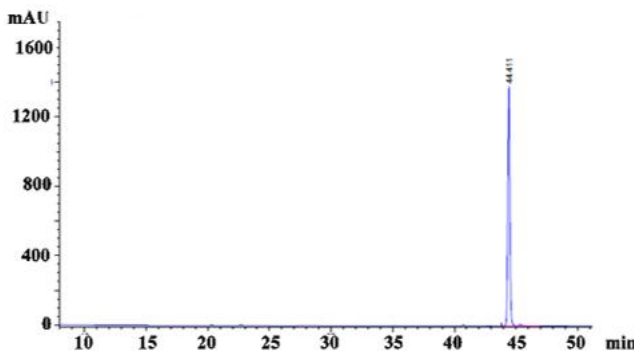
变性剂	浓度	残余酶活
不添加	0	100%
尿素	2M	95%
	5M	12%
	8M	0
SDS	0.1%	90%
	0.5%	80%
	1%	50%

2) 应用举例：重组V8酶切胰岛素

100 μl胰岛素溶液+198 μl 0.4 M Tris-HCl pH8.0+60 μl 0.1%V8蛋白酶液+超纯水补至400 μl。37 °C水浴反应2 h，加6 μl磷酸溶液终止反应，C18柱分析：

A: 酶切之前

B: 酶切之后



5. 产品优势

序列分析纯蛋白酶：特异性高，稳定性好。

无动物源性：重组生产，无外源性的病毒污染，生产过程不使用任何动物源原料。

质量稳定：批量生产，可保证稳定连续的批次生产；产品批次间无差异，质量稳定。

纯度高：比活高；宿主蛋白残留小于生物制品限度要求。

冻干粉：易于储存和运输。

符合法规要求：生产设备和生产环境符合相关法规要求，生产过程完全遵循NSF ISO 9001:2008质量体系并符合GMP指导原则。

质量文件完整：按客户需求，可提供相关法规支持文件。

6. 相关产品

重组肠激酶；

序列分析纯羧肽酶B；

序列分析纯胰蛋白酶；

序列分析纯糜蛋白酶。