



产品使用说明书

Rhinogen[®] Glu-C (Sequencing Grade)

货号：QIP-005



目 录

目 录	1
产品信息	2
试剂包装	2
产品来源	2
产品质量	2
产品特性	2
保藏条件	2
产品综述	3
背景	3
应用	3
特性	3
操作方法	4
试剂准备	4
推荐使用方法	4
操作说明	4
相关产品	5
联系我们	6
参考文献	6

产品信息

试剂包装 Rhinogen[®] Glu-C (Sequencing Grade)包装规格如下：

目录号	规格
QIP-005-A	10 μ g
QIP-005-B	5 \times 10 μ g

产品来源 Rhinogen[®] Glu-C (Sequencing Grade)是利用重组大肠杆菌系统表达并经过多步层析纯化得到的重组蛋白酶，分子量大小约为24kD。

产品质量 SDS-PAGE分析，纯度 \geq 95%；没有检测到污染的蛋白酶活性。

产品特性 最适pH为8.0-8.5。

保藏条件 采用冰袋运输，收到产品后请立即将酶置于-20 $^{\circ}$ C，密封防潮。
使用水或 50mM pH8.0 Tris-HCl 溶解成 0.5mg/ml 后，存于-20 $^{\circ}$ C 以下，6 个月稳定；存于 2-8 $^{\circ}$ C（无菌），2 个月稳定；25 $^{\circ}$ C 或 37 $^{\circ}$ C 条件下 12h，活性可维持 85%以上；避免室温下长时间放置，建议分装储存，避免多次反复冻融。

产品综述

背景

蛋白内切酶 Glu-C(又称 V8 蛋白酶、谷氨酰胺内切酶、天冬酰胺内切酶、金黄色葡萄球菌 V8 蛋白酶)属于丝氨酸蛋白酶家族,能特异水解谷氨酸(Glu)或天冬氨酸(Asp)残基羧基端肽键。其特异性受缓冲液组分直接影响,在 pH7.8 的 NH_4HCO_3 和 pH4.0 的 $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 缓冲液中识别并切割 Glu 羧基端肽键,在 pH7.8 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,如图 1。

概述

Rhinogen[®] Glu-C(Sequencing Grade)是利用重组大肠杆菌系统表达并经过多步层析纯化得到的重组蛋白酶,分子量大小约为 24kD,可以单独使用或与其它蛋白酶搭配用于蛋白质酶切测序、肽图谱分析和肽指纹图谱分析,如图 2。其在 pH4.0-9.0 之间均有活性,最适 pH 为 8.0-8.5。V8 蛋白酶的抑制剂有二异丙基氟磷酸(DFP)、 α 2-巨球蛋白和 N α -P-甲苯磺酰基-L-赖氨酸氯甲基酮(TLCK)。



图 1. Rhinogen[®] Glu-C (Sequencing Grade)特异性切割多肽链中谷氨酸或天冬氨酸残基羧基端肽键

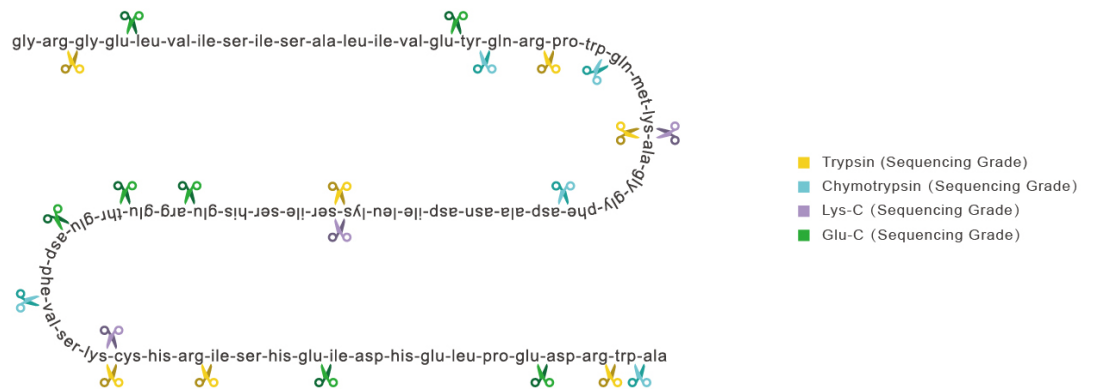


图 2. 各种蛋白酶的特异性切割位点

应用

1. 肽谱图、肽指纹谱或蛋白序列分析;
2. 蛋白质组学研究。

特性

Rhinogen[®] Glu-C (Sequencing Grade)是一种高度纯化和非常稳定的重组蛋白酶,具有稳定性高、比活性高等特点。适用于蛋白质组学研究中肽谱图、肽指纹谱或蛋白序列分析。

- ✓ **高纯度:** 没有污染蛋白酶,纯度 $\geq 95\%$;
- ✓ **高稳定性:** 每批产品都经过严格的质量控制,以实现产品批间稳定性;
- ✓ **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。

操作方法

试剂准备 使用水或 50mM pH8.0 Tris-HCl 溶解干粉，得到浓度为 0.5mg/ml-1mg/ml 的 Glu-C 溶液。溶解后建议根据单次使用量进行分装，最大限度避免污染或自切。

推荐使用方法 1) 目的蛋白溶解：用酶切缓冲液（如采用 25-50mM pH7.8 NH_4HCO_3 缓冲液）溶解目的蛋白，若目的蛋白溶解度低，可以考虑对目的蛋白进行变性处理（如添加尿素、SDS、DTT 或加热）。尿素和 SDS 对 Glu-C 蛋白酶的影响见下表：

变性剂	浓度	酶活回收率%
对照(不添加变性剂)	0	100
尿素	2M	94.73
	5M	12.26
	8M	0
SDS	0.1%	90.15
	0.5%	78.63
	1%	49.87

2) 目的蛋白酶切：Glu-C 蛋白酶的使用量推荐为，Glu-C 蛋白酶：目的蛋白=1:20-1:100 (w/w)，最适 pH 为 8.0-8.5，25°C 或 37°C 酶切 2-18hr。

注意：对于不同的蛋白样品，需要实验摸索最适的酶浓度及反应时间。

操作说明 本产品仅供研究使用，不适用于人或动物的诊断及治疗用途。

相关产品

产品名称	货号
IdeS protease	QIP-001
Chymotrypsin (Sequencing Grade)	QIP-002
Trypsin (Sequencing Grade)	QIP-003
Endoproteinase Lys-C	QIP-004
Carboxypeptidase B	QIP-006
IgdE protease	QIP-007
O-Glycoprotease	QIP-008
FabCOUPER protease	QIP-009
GlyCOUPER protease	QIP-010
Quick™ Trypsin (Sequencing Grade)	QIP-012
O-GlyCORPAR protease	QIP-013
Immobilized IdeS, Microspin	QIP-101
Immobilized IdeS Cut-Pure Kit, Microspin	QIP-102

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话: [0512-87663137](tel:0512-87663137)
 - 技术支持: techserv@rhinobio.com
-

参考文献

-
- [1] Rice R.H. et al. Stabilization of bovine Glu-C by reductive methylation[J]. Biochem. Biophys. 1977, Acta 492: 316–21.
- [2] Flannery, A.V., Beynon, R.J. and Bond, J.S. “Proteolysis of Proteins for Sequencing Analysis and Peptide Mapping”. In: Proteolytic Enzymes: A Practical Approach. R.J. Beynon and J.S. Bond, eds., IRL Press, Oxford, U.K. 1989.
- [3] Takayuki K. Nemoto et al. Determination of three amino acids causing alteration of proteolytic activities of *staphylococcal glutamyl* endopeptidases. Biol. Chem., 2009, 390: 277-285.
- [4] Yabuta M, Ochi N, Ohsuye K. Hyperproduction of a recombinant fusion protein of *Staphylococcus aureus*, V8 protease in *Escherichia coli*, and its processing by OmpT protease to release an active V8 protease derivative. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995, 44(1) : 118–125.
-

RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司
苏州瑞特佰生物科技有限公司
网 址: www.rhinobio.com
电 话: 0512-87663137
邮 箱: techserv@rhinobio.com



公众号



联系客服

