

链霉菌蛋白酶 E

货号: P8360

规格: 250mg

保存: 2-8°C保存, 有效期 1 年。

产品参数:

CAS: 9036-06-0

英文名称: PronaseE

别名: 链丝菌蛋白酶 E; Actinase E

外观 (性状): 白色至浅黄色粉末

酶活/效价: Activity(Casein;pH7.5;40°C):7000u/g

产品说明:

链霉菌蛋白酶 E 是一种非特异性蛋白水解酶。常用于提取 DNA 和 RAN 时蛋白消化; 研究蛋白结构; 从纯化的糖蛋白中获得糖肽等。

使用说明 (以下操作内容来自公开文献, 仅供参考):

消化蛋白

1. 储存液制备: 溶解于去离子水, 配制成 5-20mg/mL 的 PronaseE 储存液, 若用于 DNA 或 RNA 分离步骤, 建议将溶液 56°C 加热处理 15min, 之后 37°C 孵育 1h, 此步骤能促使酶发生自消化, 以去除 DNase 和 RNase 污染。之后将储存液分成单次用量, -20°C 冻存。
2. DNA 分离: 直接加入 DNA 制备体系 (含有 0.5-1%SDS 以打破 DNA-蛋白相互作用), 典型 Pronase E 工作浓度范围 250-500µg/mL, 于 37°C 孵育 1-4h。【注意: 建议工作浓度范围在 250-2000µg/mL, 依照具体情况而定】
3. 蛋白水解: 溶解约 0.2µM 蛋白到 0.2mL50mM 碳酸氢铵缓冲液, pH8.0 (或磷酸盐缓冲液, pH7.0), 之后按照 1% (w/w) 加入 PronaseE, 于 37°C 孵育 24h。根据情况, 有可能需要添加 4% (w/w) 氨肽酶 M, 并于 37°C 再孵育 18h。

分离小鼠原代造血干细胞

1. 雄性或雌性小鼠被麻醉, 并打开腹腔。
2. 肝脏经门静脉灌注 Hanks 缓冲盐溶液 (HBSS), 然后灌注 PronaseE 和胶原酶。
3. 用无菌镊子轻轻取出肝脏, 转移到无菌培养皿中。将肝包膜分开, 轻轻摇晃肝脏以释放细胞。
4. 将细胞悬浮于含有 PronaseE、胶原酶和 DNase 的溶液中, 然后在 37°C 下消化 20min。肝细胞经 50g 离心 3min, 两轮分离。
5. 上清在 450g 下离心获得造血干细胞 8min, 然后用 18% 尼基丹 (Nycodenz) 溶液悬浮沉淀, 制备 12%Nycodenz、8.2%Nycodenz 和 Gey's 平衡盐溶液 (GBSS) 密度梯度离心。
6. 最终, 从 8.2% 的 Nycodenz 层中纯化细胞, 获得造血干细胞。





注意事项:

1. 我司生产的生化试剂如无特殊标注,基本为非无菌包装,若用于细胞实验,请提前做好预处理。
2. 一旦配成溶液,请分装保存,避免反复冻融造成的产品失效。
3. 产品信息仅供参考,如有疑问请致电 400-968-6088 咨询。
4. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗,食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。
5. 为了您的安全和健康,请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。

相关文献:

- [1]. Chen QT, Zhang ZY, et.al. HK1 from hepatic stellate cell-derived extracellular vesicles promotes progression of hepatocellular carcinoma. *Nat Metab.* 2022 Oct;4(10):1306-1321. doi: 10.1038/s42255-022-00642-5. Epub 2022 Oct 3.
- [2]. Zhao W, Xu W, et.al. Key Amino Acid Residues of Mitochondrial Transcription Factor A Synergize with Abasic (AP) Site Dynamics To Facilitate AP-Lyase Reactions. *ACS Chem Biol.* 2023 May 19;18(5):1168-1179. doi: 10.1021/acscchembio.3c00047. Epub 2023 Mar 17.
- [3]. Fang Z, Xu Y, et.al. Narirutin activates TFEB (transcription factor EB) to protect against Acetaminophen-induced liver injury by targeting PPP3/calcineurin. *Autophagy.* 2023 Aug;19(8):2240-2256. doi: 10.1080/15548627.2023.2179781. Epub 2023 Feb 24.
- [4]. Chen S, Li S, et.al. Caspase-mediated LPS sensing and pyroptosis signaling in Hydra. *Sci Adv.* 2023 Jul 21;9(29):eadh4054. doi: 10.1126/sciadv.adh4054. Epub 2023 Jul 21.

