



凝血酶

货号: T8021

规格: 1000U

保存: -20℃保存, 有效期 3 年。

产品参数:

CAS: 9002-04-4

英文名称: Thrombin from bovine plasma

别名: 凝血酵素; Factor IIa

外观(性状): 白色、浅黄色或浅灰色冻干粉

酶活/效价: 1000 units/0.85mg solid (以实际标签为准)

来源: 牛血清

溶解性: 10mg/ml 生理盐水

产品应用:

一、凝血实验

凝血酶(Thrombin)来源于牛血浆, 分子量 37KD, 是由两条肽链(31KD 和 6KD)通过二硫键组成的。凝血酶是凝血酶原(凝血因子 II)激活后形成的蛋白质水解酶, 其催化纤维蛋白原(fibrinogen)水解掉 A 肽和 B 肽, 由此形成纤维蛋白单体, 单体进一步聚合, 在血小板、红细胞和白细胞等参与下形成血凝块。

凝血酶酶活: 固体活力: 800-1200 units/mg solid; 比活力: 比活力大于 2000 单位/mg protein;

酶活检测方法: 以纤维蛋白原为底物, 按 2010 版药典凝血酶冻干粉检测。

产品稳定性好: 冻干产品在室温条件下考察 12 个月, 酶活力未见显著变化, 冷藏条件下保存 36 个月, 酶活力未见显著变化。

二、标签切割

由于凝血酶具有切割序列专一性强, 水解效率高的特点, 它也被广泛地应用于基因工程产品的开发, 其应用之一是作为工具蛋白酶用于重组融合蛋白质的特异性断裂, 尤其适用于生物工程制药业及基因工程、生物化学、分子生物学等研究。

凝血酶是一种广泛用于切割标签的蛋白酶, 凝血酶最佳切割位点是 X4-X3-P-R[K]-X1'-X2', 这里 X4 和 X3 是疏水氨基酸而 X1'和 X2'是非酸性氨基酸, 一些经常使用的识别位点是 L-V-P-R-G-S, L-V-P-R-G-F, 和 M-Y-P-R-G-N。在 X4-X3-P-R-G-X2'之间切割比在 X4-X3-P-K-L-X2'更有效。其他识别位点是 X2-R[K]-X1', 这里 X2 或者 X1'是甘氨酸, 例如 A-R-G 和 G-K-A, 这里切割发生在第二个残基后。在凝血酶切割位点和 N 末端标签之间插入五个甘氨酸残基可改善切, 通过这一“甘氨酸连接肽”只需较少酶量就可达到完全切割, 而且也可以避免可能发生的错误切割。

溶解方法:

可用生理盐水(0.9% NaCl 溶液)配制, 储存液参考浓度为 1000U/ml, -20℃保存可稳定 6 个月。为避免反复冻融, 可分装冻存。

作为切割标签的蛋白酶具有以下特点:

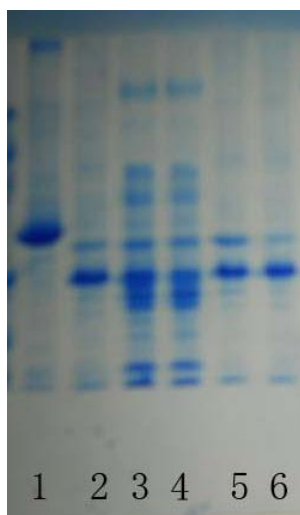
1. 纯度高: SDS-PAGE 检测图谱无杂蛋白条带;

2. 不含有其他蛋白酶活性；
3. 酶切活性高，能够有效切质量比为 1:1000 的蛋白。切割可在 20°C到 37°C之间切割 0.3 到 16 小时。
4. 有效的酶切缓冲液是 20mM Tris-HCl 缓冲液,含 150mM 氯化钠，pH8.0。
5. 凝血酶可从切割产物中用 p-氨基琼脂糖亲和纯化,或者苯甲脒琼脂糖移去。

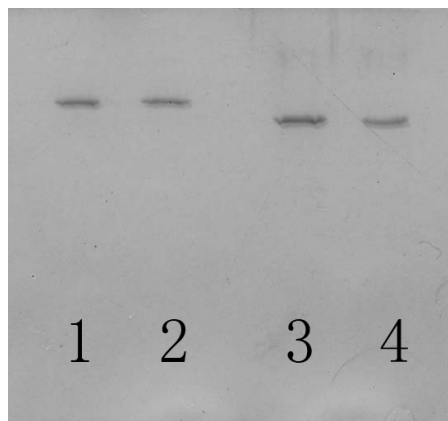
酶切条件：凝血酶酶切条件举例：20mM Tris-HCl缓冲液，含150mM NaCl，pH8.0体系中：

融合蛋白总量	100μg
凝血酶用量	0.2-0.3U
温度	20°C-37°C
酶切时间	0.3h-16h

根据底物蛋白酶切位点的差异，可以适当调整凝血酶的工作浓度与酶切时间，以便达到较好的酶切效果。



凝血酶切割样品 SDS-PAGE 比较图谱：泳道 1 为切割前样品，泳道 2 为采用 sigma 凝血酶（货号：T6634）切割后样品，泳道 3、4 为采用 sigma 凝血酶（货号：T4648）切割后样品，泳道 5、6 为采用自制凝血酶切割后样品。



SDS-PAGE 图谱：泳道 1 为自制凝血酶（非还原），泳道 2 为 sigma 公司凝血酶（非还原）；泳道 3 为自制凝血酶（还原），泳道 4 为 sigma 公司凝血酶（还原）。

相关文献：

[1] Lianghua Shen,Sijia Lei,Luyuan Huang,et al. Therapeutic effects of the rhSOD2-Hirudin fusion protein on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. European Journal of Pharmacology. June 2019; 852:77-89. (IF 3.170)

注：更多使用本产品的文献请参考索莱宝官网。