



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

Fax: 010-82597807

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com)

### 限制级凝血酶

## Thrombin, Restriction Grade

#### ● 产品包装:

产品编号	产品名称	产品包装	贮存
RT1040-01	限制级凝血酶	1000 U	-20℃
RT1040-02	1×Thrombin Dilution/Storage buffer	2 ml	-20℃
RT1040-03	10×Thrombin Cleavage buffer	1 ml	-20℃
	说明书	一份	

#### ● 产品简介:

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。凝血酶是一种广泛用于切割标签的蛋白酶，通常能够有效切割质量比为1:2000的蛋白。凝血酶最佳切割位点是X4-X3-P-R[K]-X1'-X2'（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。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酶切，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。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。

单位定义：1 U在标准切割缓冲液里20℃ 16小时能切割1mg的目的蛋白。

#### ● 保存条件:

-20℃保存，一年有效。

#### ● 使用方法:

- 1 用0.1ml 1×凝血酶稀释/贮存缓冲液（1×Thrombin Dilution/Storage buffer）（50 mM sodium citrate, 200 mM NaCl, 0.1% PEG-8000, 50% glycerol, pH 6.5）彻底溶解1000 U凝血酶粉末，得到凝血酶母液，浓度为10U/μl。
- 2 用1×凝血酶稀释/贮存缓冲液将凝血酶母液按照 1:25, 1:50, 1:100, 1:200 进行梯度稀释，稀释液含有大约每 μl 0.4U, 0.2U, 0.1U, 0.05U 凝血酶。
- 3 按照下表配制反应液:

10×Thrombin Cleavage Buffer	5 μl
目的蛋白	10 μg
凝血酶稀释液（含有不同 U 的凝血酶）	1 μl
超纯水	x μl
总体积	50 μl

注：本制品仅供科研用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。  
 中科瑞泰(北京)生物科技有限公司 电话:400-699-0631 E-mail:[real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com) <http://www.real-times.com.cn>

4 常温（20-25℃）孵育，2 小时，4 小时，6 小时，8 小时分别取样 10μl 与 5×SDS-PAGE 上样缓冲液混合后电泳检测，确定酶切程度。