

Immobilisiertes Papain auf G3m

Cat. No. NATE-1765

Lot. No. (See product label)

Einleitung

Beschreibung

Papain hat eine breite Spezifität und baut die meisten Protein-Substrate ab. Bevorzugte Spaltung: arg-, lys-, phe-X. Papain hat auch Esterase-Aktivität. G3m: 25 µg (0,6 Einheiten) Papain immobilisiert pro CR-Säule auf Dextran. Diese CR-Säule verdaut mindestens 20 µg Tubulin pro Anwendung. Nr. 7 Lagerpuffer: 50 mM Tris/HCl, 4 mM EDTA, pH 7,5 Nr. 52 Reaktionspuffer: 50 mM Phosphat, 4 mM EDTA, pH 6,0 Nr. 53 Waschpuffer: 50 mM Phosphat, 4 mM EDTA, 1 M NaCl, pH 6,0 Das Enzym ist in Gegenwart von 3,5 mM Cystein aktiver.

Synonyme

papayotin; summetrin; velardon; papaine; Papaya-Peptidase I; papain; EC 3. 4. 22. 2; 9001-73-4

Produktinformation

Herkunft

Papaya-Latex

EC-Nummer

EC 3. 4. 22. 2

Protokoll

1. Verdünnen Sie die gelieferten Puffer (mindestens 2 ml jeweils) mit sterilem doppelt destilliertem Wasser. Für 1 Anwendung benötigen Sie 1 ml 10x Reaktionspuffer und 9 ml doppelt destilliertes Wasser 2 ml 5x Waschpuffer und 8 ml doppelt destilliertes Wasser 1 ml 10x Lagerpuffer und 9 ml doppelt destilliertes Wasser Das Substrat sollte sich im Reaktionspuffer befinden. 2. Äquilibrieren Sie die CR-Säule mit 10 ml Reaktionspuffer. Füllen Sie 10 ml Reaktionspuffer in eine Spritze und lassen Sie den Reaktionspuffer durch die Säule durch Schwerkraft bis zum oberen Filter laufen. Falls der Puffer sehr langsam läuft, üben Sie Druck mit einer Spritze aus. 3. Laden Sie die Substratlösung im Reaktionspuffer. Kleine Volumina (< 70 µl): Drehen Sie die CR-Säule 5 Sekunden in einer Tischzentrifuge (2000 U/min sind ausreichend). Lassen Sie die Substratlösung in das Matrixmaterial eintreten. Größere Volumina: Lassen Sie die Substratlösung durch die Säule laufen. Durchflussrate: bis zu 70 µl/minute Halten Sie das Substrat etwa 1 Minute bei Raumtemperatur in der Säule. Eine höhere Umwandlung wird erreicht, wenn das Substrat erneut auf die Säule aufgetragen oder länger inkubiert wird. 4. Eluieren Sie die Produktlösung. Kleine Volumina (< 70 µl): Zentrifugieren Sie das Produkt aus der Säule. Größere Volumina: Lassen Sie das Substrat durch die Säule laufen und zentrifugieren Sie die verbleibende Lösung aus der Matrix. Hinweis: Moleküle < 700 Dalton müssen mit 7 ml Reaktionspuffer eluieren. Es schadet den Säulen nicht, wenn sie trocken laufen. 5. Waschen Sie die Säule mit 10 ml Waschpuffer. 6. Äquilibrieren Sie die Säule mit 10 ml Lagerpuffer. Lagern Sie die Säule bei 4°C. Frieren Sie eine CR-Säule niemals ein!

Lager- und Versandinformation

Lagerung

4 °C