

Instrukcja

Proteinaza K (liofilizat)

Enzym do trawienia białek w próbach biologicznych. Aktywność ≥ 30 U/mg.

REF	wielkość
1019IV-25L	25 mg
1019IV-100L	100 mg
1019IV-250L	250 mg
1019IV-500L	500 mg
1019IV-B1L	1 g
1019IV-B50L	50 g
1019IV-B100L	100 g
1019IV-150U	150 U
1019IV-750U	750 U

Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro.



 A&A Biotechnology, Strzelca 40, 80-299 Gdańsk, Polska

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Opis

Proteinaza K (EC 3.4.21.64) jest proteazą serynową o szerokim spektrum działania. Jest jedną z najbardziej aktywnych znanych endopeptydaz. Enzym hydrolizuje wiązanie peptydowe sąsiadujące z grupą karboksylową aminokwasów alifatycznych bądź aromatycznych z zablokowaną grupą aminową.

Proteinaza K jest inaktywowana przez fluorek fenylometylosulfonylu (PMSF) lub fluorofosforan diizopropylu (DFP). Jest rekombinowanym enzymem produkowanym w *Pichia pastoris*.

Zastosowanie

- niezwykle skuteczna degradacja natywnych i zdenaturowanych białek w materiale biologicznym.
- używana do dezaktywacji endogennych DNaz i RNaz w procesie izolacji kwasów nukleinowych.

Skład

	1019IV-25L	1019IV-100L	1019IV-250L	1019IV-500L	przechowywanie
proteinaza K, rekombinowana, liofilizat	25 mg	100 mg	250 mg	500 mg	2-8 °C*

	1019IV-B1L	1019IV-B50L	1019IV-B100L	
proteinaza K, rekombinowana, liofilizat	1 g	50 g	100 g	2-8 °C*

	1019IV-150U	1019IV-750U	
proteinaza K, rekombinowana, liofilizat	150 U	750 U	2-8 °C*

*Transport 15-25 °C.

Definicja jednostki

Jedna jednostka proteinyzy K hydrolizuje zdenaturowaną hemoglobinę wytwarzając barwę odpowiadającą 1,0 μmol tyrozyny na minutę przy pH 7,5 w temperaturze 37 °C (barwienie odczynnikiem Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent).

Referencje

1. Burkiewicz A., Dąbrowski S., Barski P., Polska rekombinowana Proteinaza K, (2007) *Postępy Biochemii* 53(4): 327-328
2. Ebeling W., Hennrich N., Klockow M., Metz H., Orth H.D., Lang H., (1974) *Eur. J. Biochem.* 47(1):91-97
3. Hilz H., Wieggers U., Adamietz P., (1975) *Eur. J. Biochem.* 56(1):03-08
4. Betzel C., Sigh T.P., Visanji M., et al., (July 1993) *J. Biol. Chem.* 268(21):15854-15858

Protokół

Aby uzyskać roztwór proteiny K, należy dodać do fiolki z liofilizatem odpowiednią ilość jałowej wody (nie załączono) lub zalecanego buforu do przechowywania: 20 mM Tris, pH 7,5, 1 mM CaCl₂, 0,02% azydek sodu, 50% glicerol (v/v) (nie załączono).

W przypadku dłuższego przechowywania roztworu rekomendujemy rozpuszczenie liofilizatu w buforze (20 mM Tris, pH 7,5, 1 mM CaCl₂, 0,02% azydek sodu, 50% glicerol (v/v)).

Temperatura przechowywania roztworu proteiny K wynosi 2–8 °C.

Uwaga: Proteinaza K ulega naturalnej autoproteolizie przy stężeniach poniżej 1 mg/ml; należy to uwzględnić podczas przygotowywania roztworu.

Informacje bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

Proteinaza K

H315 Działa drażniąco na skórę.

H319 Działa drażniąco na oczy.

H334 Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

H335 Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.

P261 Unikać wdychania pyłu.

P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i

można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P342+P311 W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego skontaktować się z









Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.

Rozwiązywanie problemów

Problem	Możliwa przyczyna	Sugerowane rozwiązanie
Proszek słabo się rozpuszcza / roztwór jest mętny	Zbyt wysokie stężenie docelowe enzymu.	Obniż stężenie docelowe enzymu. W razie mętności odwiruj i użyj klarownego supernatantu.
	Nieodpowiedni bufor lub woda użyta do przygotowania roztworu.	Użyj zalecanego buforu/wody ultraczystej.
	Niedostateczne lub zbyt gwałtowne mieszanie.	Zastosuj odpowiednie mieszanie (np. odwracanie probówki, mieszanie na rotatorze).
	Częściowa degradacja starego lub niewłaściwie przechowywanego liofilizatu.	Użyj świeżej partii enzymu.
Niska lub brak aktywności po rozpuszczeniu	Niewłaściwe pH lub skład buforu (np. brak Ca^{2+}).	Sprawdź pH i skład buforu.
	Przechowywanie roztworu w zbyt wysokiej temperaturze.	Przygotuj świeży roztwór z liofilizatu.
	Wielokrotne zamrażanie-rozmrażanie.	Przygotuj małe porcje i unikaj powtórzonego zamrażania.
	Obecność inhibitorów proteaz.	Upewnij się, że w mieszaninie nie ma inhibitorów.
Stopniowa utrata aktywności podczas przechowywania roztworu	Błąd w obliczeniu stężenia lub dozowaniu.	Zweryfikuj obliczenia i dozowanie enzymu. Wykonaj test aktywności na próbce kontrolnej.
	Zbyt długi czas przechowywania w niewłaściwej temperaturze.	Przestrzegaj zaleceń dotyczących temperatury i czasu przechowywania.
	Brak podziału na porcje i wielokrotne pobieranie z jednej probówki.	Przechowuj enzym w małych porcjach.
	Adsorpcja białka do ścianek.	Używaj odpowiednich probówek (np. PP).
	Powolna degradacja przy niewłaściwym pH lub zanieczyszczeniach.	Stosuj zalecane bufony/stabilizatory. W razie wątpliwości przygotuj świeży roztwór.
Podejrzenie kontaminacji mikrobiologicznej roztworu	Autoproteoliza.	Przygotuj roztwór w stężeniu powyżej 1 mg/ml.
	Brak aseptyki przy przygotowaniu.	Przygotuj roztwór w warunkach aseptycznych. Stosuj sterylne probówki i końcówki do pipet.
	Długotrwałe przechowywanie roztworu w temperaturze wyższej niż zalecana.	Przechowuj roztwór w zalecanej temperaturze.

Problem	Możliwa przyczyna	Sugerowane rozwiązanie
Brak oczekiwanego efektu w procedurze (np. izolacja DNA/RNA)	Brak sterylnej filtracji przed planowanym długim przechowywaniem.	Po rozpuszczeniu przefiltruj roztwór. W przypadku widocznej kontaminacji odrzuć roztwór i przygotuj nowy z liofilizatu.
	Zbyt niskie lub zbyt wysokie stężenie enzymu.	Zweryfikuj zalecenia producenta zestawu/metody i dostosuj ilość enzymu.
	Nieodpowiedni czas / nieodpowiednia temperatura inkubacji.	Dostosuj czas oraz temperaturę inkubacji.
	Specyfika materiału.	Zmodyfikuj przygotowanie próbki (np. dokładniejsze rozdrobnienie, zmiana buforu). Wykonaj reakcję na próbce referencyjnej jako kontrolę.

Wyjaśnienie użytych symboli

symbol	znaczenie	symbol	znaczenie
	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki in vitro		Numer katalogowy
	Producent		Wskazuje, że użytkownik powinien zapoznać się z instrukcją obsługi
	Nr serii		Oznacza konieczność zapoznania się z instrukcją obsługi w celu uzyskania ważnych informacji, takich jak ostrzeżenia i środki ostrożności
	Data ważności		Zakres temperatury przechowywania



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2025-1

