



PROTEINASE K LIQUIDE STABILISEE

Protéase aspécifique isolée à partir de *Tritirachium album*

1/ INTRODUCTION :

La protéinase K, de la famille des subtilisines, est purifiée à partir de la moisissure *Tritirachium album*. Cet enzyme est utilisé pendant l'étape de protéolyse en amont des différentes procédures d'extraction des acides nucléiques.

2/ UTILISATION :

La protéinase K qui possède deux sites de liaison pour le calcium et conserve 20% de son activité en présence d'EDTA, conditions dans lesquelles l'activité protéolytique est suffisante pour la plupart des protéines.

Pour les protéines hautement résistantes aux protéases (kératine), il convient d'utiliser un tampon d'incubation supplémenté avec 1mM CaCl₂. A la fin de la digestion, le calcium doit être chélaté avec de l'EGTA (pH = 8) à une concentration finale de 2mM avant la purification des acides nucléiques.

3/ CARACTERISTIQUES :

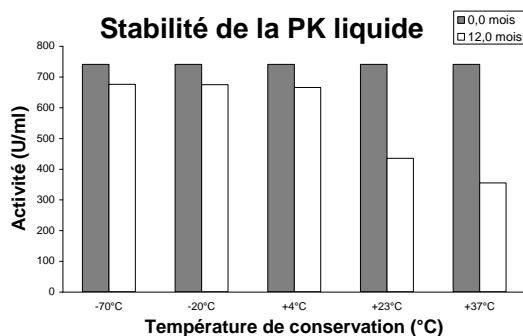
Habituellement, la protéinase K est fournie sous forme de poudre. Elle est ensuite reconstituée extemporanément par l'utilisateur, puis conservée en aliquotes à -20°C.

Ces étapes de préparation peuvent être source d'erreurs et de contaminations.

Afin de pallier à ces deux inconvénients majeurs, EUROBIO propose une formulation liquide prête à l'emploi d'une stabilité supérieure à 1 an à +4°C.

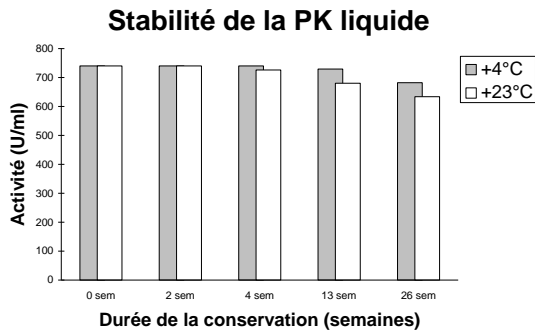
4/ ETUDE DE STABILITE DE LA PK LIQUIDE :

Le graphique ci-dessous représente la variation d'activité de la protéinase K liquide dans le temps en fonction de la température.



Alors qu'à +23°C, une diminution notable de l'activité est observée après une année de conservation, aucune perte significative n'est observée lorsque la température de conservation est de -20°C ou de +4°C.

De plus, l'activité reste constante pendant 4 semaines à une température de à +23°C. Ceci permet l'expédition de la protéinase K à température ambiante.



5/ FORMULATION ET UTILISATION :

La protéinase K liquide EURO BIO est fournie à une concentration de 20 mg/ml. L'activité spécifique est supérieure à 32 UmAnson/mg. Le tampon de conservation est spécialement étudié pour permettre une conservation longue durée (> 1 an). La dilution de la formulation initiale induit une perte de stabilité. Si toutefois vous souhaitez effectuer une dilution, il est recommandé de conserver l'enzyme à - 20°C ou de l'utiliser immédiatement. La concentration finale d'utilisation varie de 100 à 250 µg/ml selon la nature des cellules ou des tissus à extraire.

6/ CONDITIONNEMENT :

| Conditionnement | Référence |
|-----------------|-------------|
| 5 x 1 m | GEXPRK01-I5 |
| 10 x 1 ml | GEXPRK01-B5 |

Nombre de tests réalisables :

Le nombre minimum a été calculé en utilisant 250 µg de protéinase K liquide par échantillon traité (soit l'équivalent de 12,5 µl par échantillon). Le nombre maximum de tests correspond à l'utilisation de 100 µg de protéinase K par échantillon (soit l'équivalent de 5 µl par échantillon).

| Référence | Minimum | Maximum |
|-------------|---------|---------|
| GEXPRK01-I5 | 400 | 1000 |
| GEXPRK01-B5 | 800 | 2000 |

NDE