

# 凝血酶 (Thrombin)

保存: -20℃保存, 三年有效。

## 包装内容:

产品编号	产品名称	包装
CT11111	凝血酶 (Thrombin)	1000U

## 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。

## 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: 50-200 单位/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。

**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℃到 37℃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℃-37℃

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。