

# 蛋白酶 K (Proteinase K) | 产品技术说明书

## 一、产品行业应用背景

在基因组 DNA、总 RNA 分离纯化、石蜡切片分子检测、高分子量染色体制备等分子生物学实验中，蛋白彻底消化是释放高质量核酸的关键环节。蛋白酶 K 作为广谱丝氨酸内切蛋白酶，能够降解核酸结合蛋白、组蛋白以及样本内源性 DNase、RNase，从源头保护核酸完整性。酶的比活、纯度、有无核酸酶污染、变性剂耐受能力，直接决定核酸得率与下游 PCR、qPCR、测序、杂交实验成败。

实验室选用低纯度蛋白酶 K 或自制酶体系存在多重短板。粗酶制剂常携带 DNase、RNase 杂质，珍贵核酸样本持续降解；酶活性不足，消化不完全，核酸被蛋白包裹难以释放；对 SDS、尿素等裂解变性剂耐受差，必须额外去除去污剂，延长操作流程；批次活性波动大，消化时长难以标准化；缺乏严格质控，无法适配 RNA 提取、微量临床样本等严苛场景。针对以上行业痛点，富沃克生物推出分子生物学级蛋白酶 K，源自林伯氏白色念球菌，高比活冻干粉，严格去除 DNase/RNase，耐受多种变性剂，兼容核酸提取、原位杂交、石蜡切片抗原修复等多元实验场景。本品仅限科研教学实验场景使用，不适用于临床体外诊断量产流程。

## 二、技术原理与结构特性

蛋白酶 K 属于枯草杆菌蛋白酶家族广谱丝氨酸蛋白酶，活性中心具备 Asp39、His69、Ser224 典型催化三联体，分子内含二硫键与两个  $\text{Ca}^{2+}$  结合位点，结构稳定性优异，耐受宽 pH 与较高温度。催化机制依靠活性中心丝氨酸残基亲核攻击肽键，优先水解疏水氨基酸、含硫氨基酸、芳香族氨基酸 C 端邻近肽键，将大分子蛋白逐步切割为短肽与游离氨基酸。

本产品活性区间 pH 4.0 - 12.5，最适 pH 7.5 - 8.0；在 0.1 - 0.5% SDS、低浓度尿素存在下活性提升。EDTA 等金属螯合剂会削弱酶活力，可适量补充  $\text{Ca}^{2+}$  缓解；常规浓度 Triton X-100、Tween 20、盐酸胍对酶活性影响较小。推荐反应温度 50 - 55℃；

65℃长时间孵育会加速蛋白酶 K 自身降解；95℃加热 10 min 可实现完全热失活，方便终止消化反应。

### 三、产品完整组成

产品形态为白色至淡黄色冻干粉，分子生物学级；配套纸质操作说明书；常规规格 100 mg、1 g。出厂开展酶活检测、DNase/RNase 活性验证、纯度质控；冰袋低温运输，按条件密封保存，可自行配制 20 mg/mL 储存液使用。

无额外杂质酶污染，适配细胞、组织、石蜡切片、微生物样本等多种原料的核酸提取；同时具备病毒蛋白灭活能力，提升样本操作安全性，适合常规核酸纯化、高通量样本前处理平台长期采购。

### 四、产品核心性能与科研优势

#### 4.1 分子生物学高纯级别，无 DNase/RNase 污染

严格纯化工艺去除核酸酶杂质， $\lambda$  DNA 底物长时间孵育未检出 DNase 活性，RNA 底物孵育无明显 RNase 降解现象。尤其适配总 RNA 提取、微量珍贵样本实验，杜绝外源核酸酶造成样本降解，保障 qPCR、Northern Blot、转录组测序数据稳定可靠。

#### 4.2 高催化活性，高效降解结合蛋白

酶活力 $\geq 30$  U/mg，可高效水解与核酸紧密结合的组蛋白、结构蛋白，充分释放基因组 DNA、质粒、RNA；同步降解样本内源性核酸酶，双重保护目标核酸，提升核酸提取回收率与纯度。

#### 4.3 耐受多种变性剂，适配复杂裂解体系

在 SDS、尿素等蛋白变性环境下活性增强，无需预先去除去污剂，可直接在标准裂解液体系内消化，简化核酸提取流程，适配常规柱提法、酚氯仿法多种核酸纯化方案。

#### 4.4 应用场景覆盖面广，通用性强

覆盖核酸提取、原位杂交、石蜡切片抗原修复、脉冲场电泳高分子量 DNA 制备、蛋白印迹前处理等多种实验，单一试剂满足分子实验室多项常规需求。

#### 4.5 兼具病毒灭活效果，提升操作安全

蛋白酶 K 可水解病毒外壳蛋白，破坏病毒颗粒结构，降低样本传染性，提升临床样本、病原微生物样本处理过程中的生物安全水平。

### 五、产品适用科研场景

核酸提取：基因组 DNA、质粒 DNA、总 RNA 提取，降解结合蛋白，释放核酸；

核酸酶去除：水解样本内源 DNase、RNase，保护核酸完整；

原位杂交（ISH）：消化蛋白屏障，提升探针穿透效率，增强杂交信号；

石蜡包埋组织抗原修复：蛋白酶 K 介导抗原表位修复（PIER）；

脉冲场电泳：高分子量染色体 DNA 样本制备；

蛋白质印迹：蛋白样品前处理、多肽消化。

### 六、规范操作使用说明

**储存液配制方案：**冻干粉使用无菌 20 mM Tris-HCl (pH7.4) +1 mM CaCl<sub>2</sub> 缓冲液溶解，配制成 20 mg/mL 母液；采用低蛋白吸附 0.22 μm 滤膜过滤除菌，分装。如需 4℃ 短期存放，可加入等体积无菌甘油，配制成含 50% 甘油稳定储存液。

**常用工作浓度：**50 - 200 μg/mL，根据裂解液组分、样本类型、孵育温度调整。

**标准操作流程：**按照核酸提取试剂盒方案添加蛋白酶 K；推荐 50 - 55℃ 孵育 30 - 60 min；37℃ 可过夜消化；反应结束 95℃ 加热 10 min 实现完全失活。

### 七、使用注意事项

EDTA 金属螯合剂会抑制蛋白酶 K 活性，体系高 EDTA 环境建议补充适量  $\text{Ca}^{2+}$ ；母液建议小体积分装，避免反复冻融导致酶活力衰减；冻融后 4℃ 短期存放并尽快使用；实验操作佩戴实验服、手套、口罩，做好生物安全防护；储存液出现浑浊、沉淀建议废弃，避免影响消化效果。

## 八、储存条件

冻干粉：4℃ 干燥密封保存，有效期 3 年；长期保存推荐 -20℃；

20 mg/mL 水溶液：分装后 -20℃ 避光保存，减少反复冻融；

50%甘油储存液：4℃ 条件下可稳定保存 1 年；

运输方式：冰袋低温运输。

## 九、产品订购与售后信息

蛋白酶 K 长期现货供应，规格包含 100 mg、1 g，支持大批量采购。富沃克生物提供核酸提取方案、酶消化条件优化技术指导与完善售后保障。欢迎各大分子生物学实验室、科研院所、医疗机构、生物医药研发企业咨询选购。

厂家咨询、采购微信（同手机号）：19850855600

富沃克生物 —— 专注生命科学工具，以高品质蛋白酶 K 赋能核酸提取与蛋白研究的每一个环节，持续完善核酸纯化、酶促反应全套分子实验试剂方案。



扫一扫上面的二维码图案，加我为朋友。