

凝血酶来源于牛血浆；Thrombin from bovine plasma

产品编号：MB1368

质量标准：牛来源，比活 2000U/mg

包装规格：1000U

产品形式：白色冻干粉或块状物

基本信息

分子量	37KD
CAS No.	9002-04-4
储存条件	2-8℃，避光防潮密闭干燥
溶解性(25℃)	生理盐水
其他说明	为了您的安全，请佩戴一次性手套和口罩操作

简介：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。

物理性状及指标：

外观：.....白色冻干粉或块状物

溶解度：.....生理盐水

纯度：.....SDS-PAGE 检测图谱无杂蛋白条带

比活度：.....>2000 U/mg protein

冻干粉储存条件：2-8℃，避光防潮密闭干燥

储液配置：

储备溶液可在生理盐水中以 100 单位/ml 的浓度制备。由于凝血酶溶液吸附到玻璃上，因此建议将溶液等份放入塑料管中，并在-20℃ 下储存，以便长期储存。

产品特点：

- 1、纯度高：SDS-PAGE 检测图谱无杂蛋白条带；
- 2、比活高：比活力大于 2000 单位/mgpr；可以 PK 最好的进口产品，目前没有检索到更高比活的国产同类产品；
- 3、不含有其他蛋白酶活性；
- 4、灭活病毒：生产过程中采用 S/D 法和干热法两步灭活病毒；
- 5、性价比及其突出，尤其对于工业客户，国内产品的价格，国际顶尖产品质量。

使用说明：

（一）融合蛋白切割

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，能够有效切割质量比仅为 1:2000 的蛋白。切割可在 20℃ 到 37℃ 之间切割 0.3 到 16 小时。凝血酶最佳的切割位点是 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 MY-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。有效的消化缓冲液是 20mM Tris-HCl 缓冲液,含 150mM 氯化钠,pH8.0。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。

(二) 血小板聚集试验

凝血酶与血小板表面的凝血酶受体结合,活化血小板,使血小板粘附和聚集。

血小板聚集实验参照文献:兔血用塑料管收集和用 ACD(86 mmol/L 柠檬酸钠, 111 mmol/L 葡萄糖, 53 mmol/L 柠檬酸)0.15 体积比抗凝, 200 g 离心 10 min, 离心 2 次, 取上清, 800g 离心 15 min。沉淀中加 Tyrode—Hepes 缓冲液(140 mmol/L NaCl, 5 mmol/L KCl, 1 mmol/L MgCl₂, 10 mmol/L Hepes, 10mmol/L 葡萄糖, pH 7.4)调节至血小板数为(3~4)×10¹¹/L。血小板聚集用血液凝集仪来测定。血小板悬液(0.2ml)与药物温育 1 min, 然后用凝血酶(500 u/L)作用 5 min, 记录聚集情况。

【注意】

- 我司产品为非无菌包装,若用于细胞培养,请提前做预处理,除去热原细菌,否则会导致染菌。
- 部分产品我司仅提供部分信息,我司不保证所提供信息的权威性,以上数据仅供参考交流研究之用。

活性化合物操作注意事项

1 产品分装: 您收到货物后最好不要自己进行分包,因为分包环境、包装材料等因素可能导致分包后的产品变质;如您有特殊包装要求,请在订购时候与我们客服代表阐明,当然价格会做适当调整。对于开盖后,长期未使用的,请务必重新密封好,建议 Parafilm 封口膜,并按照相应储存条件使用。如果放置时间过长,超过产品有效期,建议您重新购买,以免影响实验质量。

2 储备液制备: 大部分试剂的溶液形式稳定性较差,请优先采用现用现配的方式。如需制备储存液,请选用合适溶剂,细胞培养类多选择 DMSO,储备液制备完成后请于零下 80 摄氏度储存,一般可以稳定存在 3-6 个月以上。在使用前,再对储备液进行稀释。避免储备液反复冻融。

3 细胞培养工作液制备: 请根据个人需要正确计算浓度,稀释储备液或者直接用粉末配置工作液。由于大部分化合物是脂溶性的,所以使用水性溶剂(如 PBS)稀释时,可能会析出沉淀,可通过超声使固体重新溶解,不会对实验产生影响。如用 DMSO 作为溶剂,请确保 DMSO 最终使用浓度<0.3%,以避免细胞毒性。

灭菌方式,我们建议通过 0.22UM 微膜过滤方式除菌,请勿采用紫外,射线或者高温灭菌方式,否则会影响化合物活性,甚至破坏其结构导致彻底失活。

4 体内动物实验应用: 由于很多化合物是脂溶性的,动物实验工作液配制失活,可能会需要加入一些药用辅料作为助溶剂,如吐温,CMC-NA,甘油等,具体需要客户查阅相关文献决定。如使用 DMSO,请确保 DMSO 的终浓度<5%,以避免毒性作用。给药剂量设计时候,可以参考下表

动物体表面积等效剂量换算表

物种	体重(KG)	体表面积(M ²)	Km 系数
狒狒	12	0.6	20
狗	10	0.5	20
猴	3	0.24	12
兔	1.8	0.15	12
豚鼠	0.4	0.05	8
大鼠	0.15	0.025	6

仓鼠	0.08	0.02	5
小鼠	0.02	0.007	3

动物 A(mg/kg)=动物 B(mg/kg) X 动物 B 的 Km 系数/动物 A 的 Km 系数

5 关于产品到货处理及验收

您收到产品后,请及时查验产品的包装完整性,并对数量进行确认。对于很多微量的产品,数量低于 500MG 的,我们出厂前都是保证正确数量包装的。由于产品包装可能在运输过程中倒置,从而导致产品附着在管壁或者盖子上,这时候请不要先打开盖子,需正位放置轻轻拍打,使产品沉降到管底。对于液体产品,可以在 200 转左右稍作离心,管底收集液体,从而避免损失。

产品标签标示重量会有一定误差,在下面范围内均属于我司正常范围,望周知。

标示重量范围	误差范围
1-20MG	0.1MG
50-500MG	1MG
>1G	3-5MG

为什么会看起来包装瓶是空的,如果您购买的产品的量非常小,同时有些产品在冻干的过程中粘附在管壁上形成薄薄的一层,可能观察不到产品的存在。您可以加入指定溶剂(参照操作手册)并涡旋或超声震荡使之完全溶解。

对于蜡状或油状的产品很难取出称量它们的质量,我们建议您用合适的溶剂直接溶解该化合物;对于具有吸湿性的化合物,暴露在空气中会吸收水分,呈现液滴状,这种产品需要放置在干燥器中保存。