

# 生物素连接酶(BirA)

**产品名称:** 生物素连接酶(BirA)

**产品规格:** 100ug/500ug/1mg

**产品货号:** ATB08036

**储存条件:** -20°C, 12 个月

## 产品简介:

生物素连接酶(Biotin Ligase,BirA)是大肠杆菌 BirA 基因编码的双功能蛋白质, 能识别蛋白质分子的特异性序列(BirA Substrate Peptide),使蛋白质生物素化。该酶带有 6his 标签, 剪切反应完毕后可通过 Ni-NTA 去除。

## 产品组分:

产品内容	产品编号	包装规格
生物素连接酶	ATB08011-1	100ug(1mg/ml)
10X Buffer A	ATB08011-2	1ml
10X Buffer B	ATB08011-3	1ml
D-Biotin	ATB08011-4	1ml (500uM)

## 产品信息:

浓度: 1mg/ml

酶活: > 7.5kU/mg

最适合酶活 pH: 8.0-9.0(可操作范围 6.0-9.0)

最适酶活温: 37°C (温度范围 0-37°C)

辅助因子: 5-10mM Mg<sup>2+</sup>

储存缓冲液: 20mM Tris, 20mM NaCl, 2mM MgCl<sub>2</sub>, 10%Glycerol, pH8.0

## 酶活定义:

37°C, pH 8.0 反应条件下, 将 1pmol 蛋白质或者多肽(融合 BSP 序列)生物素化所需要的酶量定义为一个活性单位(U)。

**适用范围:**

生物素标记融合 BSP 的蛋白质

**反应体系:**

反应物组成	体积	终浓度
生物素连接酶	0.17ul	6.4ng/ul
10X Buffer A	2.5ul	1X
10X Buffer B	2.5ul	1X
蛋白(多肽)底物	1nmol	40uM
dH2O	Up to 25ul	

总体积 25ul, 于 30°C 孵育 30 ~ 40 min 使底物完全生物素化。

**注意事项:**

1) 本产品的底物为 AviTag 融合蛋白。

2) Buffer A 和 Buffer B 已经针对生物素化反应进行优化, 底物浓度不超过 40  $\mu\text{M}$ 。如果底物浓度达 40~80  $\mu\text{M}$ , 则要加入额外的生物素, 反应如下: 1 份 10 $\times$ Buffer A, 1 份 10 $\times$ Buffer B, 7 份酶底物混合物和 1 份 D-Biotin。如果底物浓度超过 80  $\mu\text{M}$ , 请酌情用 10 mM Tris-HCl, pH 8.0 稀释底物。

3) 在相同的酶量下, 高浓度的底物(高至 40  $\mu\text{M}$ )可以保证快速完成生物素化, 底物浓度越低, 生物素化所需时间越长。使用相同量的生物素连接酶, 40  $\mu\text{M}$  底物可以在 30 分钟内完成生物素化, 而 4  $\mu\text{M}$  底物则需要 5 小时。如果需要在 30 min 内使 4  $\mu\text{M}$  底物完成生物素化, 相同的底物量应加入 10 倍量的酶。

4) 如底物蛋白(多肽)需保存在较低温度时, 可适当降低反应温度并应延长酶促反应时间。

5) 氯化钠 (>100 mM)、甘油 (>5% W/V)、硫酸铵 (>50 mM) 等许多常见的缓冲液成分会抑制生物素连接酶的活性。当底物蛋白(多肽)确有必要使用这些试剂时, 应尽量降低浓度。

6) 底物中可含有 Tris(pH 8.0), 最佳浓度为 10 mM, 不超过 50 mM。

**\*本试剂仅供实验室研究使用**