

TEV Protease

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------|--------------|-------|
| P2307 | TEV Protease | 1000U |

产品简介:

- TEV Protease是一种在大抽杆菌中重组表达的带His标签(6X His tag)的烟草蚀纹病毒(Tobacco Etch Virus, TEV)的半胱氨酸蛋白酶,能特异性地识别七肽序列Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln-Gly/Ser,并在Gln和Gly/Ser氨基酸残基之间进行酶切,常用于去除融合蛋白的Glutathione S-transferase (GST)、His或者其他标签的蛋白酶。
- 建议把GST或His等标签设计在融合蛋白的N端,并在GST或His等标签与目的蛋白之间设计加入TEV Protease专一性识别与酶切的上述七肽序列。这样在GST或His标签被酶切后,在目的蛋白的N端仅有一个额外的Gly/Ser氨基酸残基,从而最大限度地减少了对目的蛋白结构和功能的影响。构建含有TEV Protease专一性识别位点的目的蛋白表达质粒,可以考虑选购碧云天的质粒pET-N-His-TEV (P2905)。
- TEV Protease的最佳酶切温度是30°C,在29-34°C范围内均具有较高的酶活性,但当温度达到或高于高37°C时,其酶活性会急剧下降。在实际操作过程中,为尽量保留目的蛋白的结构和生物活性,建议在4°C用TEV Protease酶切过夜。TEV Protease在pH6.0-9.0范围内具有活性,而当pH小于或等于5时,会失去酶活性。
- TEV Protease还有一个突出的优点是在400mM咪唑中仍有较高活力,因此对于很多用镍柱纯化的His标签目的蛋白,可直接将TEV Protease加入含高浓度咪唑的刚刚纯化的目的蛋白溶液中,在4°C边透析去除咪唑边进行酶切。当然也可以在透析后再用TEV Protease进行酶切以去除His标签。经过酶切的目的蛋白,溶液中带有His标签的本TEV Protease以及切除下来的His标签,都可以通过与镍柱结合而去除。His标签蛋白的纯化可以考虑选购碧云天的BeyoGold™ His-tag Purification Resin (P2210/P2218/P2220)或His标签蛋白纯化试剂盒(P2226)。
- TEV Protease的酶活性不会被常见的丝氨酸蛋白酶抑制剂(serine protease inhibitor)如PMSF、AEBSF、bestatin、pepstatin、E-64、TLCK和EDTA所抑制。但靶向半胱氨酸(Cysteine)残基的蛋白酶抑制剂如NEM或IAA等,可以显著抑制TEV Protease的酶活力,因为天然的TEV Protease含有其维持酶活力所必需的Cys151。
- 酶活性单位定义: 30°C, pH8.0条件下反应1小时,能够切割3μg对照底物达85%以上所需的酶量为一个活性单位。
- 碧云天TEV Protease酶活性鉴定结果可参考图1。

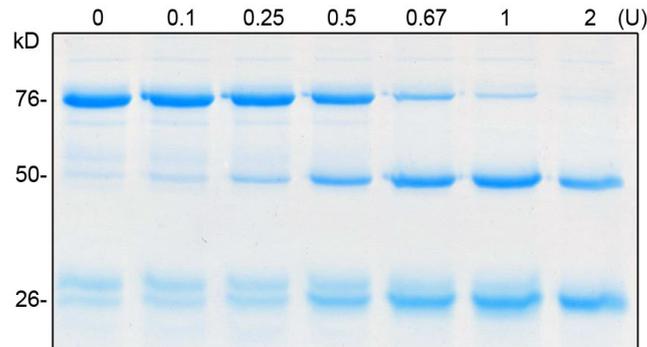


图1. TEV Protease切割GST标签蛋白的效果图。含有TEV Protease识别位点的76kD GST标签蛋白与TEV Protease进行反应,底物的用量为3μg,酶的用量依次为0、0.1、0.25、0.5、0.67、1、2U,30°C在1X TEV Buffer中反应1小时后取样进行SDS-PAGE电泳和考马斯亮蓝染色。酶切产物大小为约50kD的目的蛋白和约26kD的GST标签。

- TEV Protease分子量大小约28kDa,纯度: ≥95%。
- TEV Protease储存液组成为: 25mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 1mM EDTA, 5mM DTT, 50%(v/v)甘油, pH8.0。
- 10X TEV Buffer组成为: 500mM Tris-HCl, 500mM NaCl, 5mM EDTA, 10mM DTT, pH8.0。
- 本产品一个包装含有1000单位的酶,可用于约3mg带有TEV Protease识别位点的融合蛋白的切割。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|---------|----------------------|-----|
| P2307-1 | TEV Protease (1U/μl) | 1ml |
| P2307-2 | 10X TEV Buffer | 2ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 由于不同标签蛋白具有不同的特性，所以在实际使用时，建议对酶和标签蛋白的比例进行适当优化，以下是一个简单的估计酶用量的实验方案。

a. 按照下表设置酶切反应体系:

| 组分 | 体积(μl) |
|----------------------|-----------|
| H ₂ O | X |
| 10X TEV Buffer | 5 |
| 标签蛋白(8μg) | Y |
| TEV Protease (1U/μl) | 0、1.5或2.5 |
| 总体积 | 50 |

注: 如果标签蛋白浓度为2μg/μl, 那么Y=8/2=4, 即须使用4μl 2μg/μl的标签蛋白。

- b. 将反应混合物放置于30°C反应1、2、4或6小时。如果目的蛋白在30°C很不稳定, 可以考虑4°C反应过夜(16小时左右)。正常情况下按照上述反应体系, 无论30°C反应1小时还是4°C反应16小时实际测定发现都可以充分剪切并去除标签的。
- c. 取20μl样品进行SDS-PAGE电泳分析, 确定反应所需的合适酶量和合适的反应时间。

相关产品:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------|--------------------------------------|--------|
| P2210 | BeyoGold™ His-tag Purification Resin | 10ml |
| P2218 | BeyoGold™ His-tag Purification Resin | 100ml |
| P2220 | BeyoGold™ His-tag Purification Resin | 1000ml |
| P2226 | His标签蛋白纯化试剂盒 | 10ml |
| P2251 | BeyoGold™ GST-tag Purification Resin | 10ml |
| P2253 | BeyoGold™ GST-tag Purification Resin | 100ml |
| P2255 | BeyoGold™ GST-tag Purification Resin | 1000ml |
| P2262 | GST标签蛋白纯化试剂盒 | 10ml |
| P2302 | PreScission Protease | 100U |
| P2303 | PreScission Protease | 500U |
| P2307 | TEV Protease | 1000U |
| P2308 | TEV Protease | 10000U |
| D2905 | pET-N-His-TEV | 1μg |

Version 2018.04.11