

## TEV Protease

| 产品编号  | 产品名称         | 包装     |
|-------|--------------|--------|
| P2308 | TEV Protease | 10000U |

### 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或者其它标签的蛋白酶。
- 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)。
- 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。

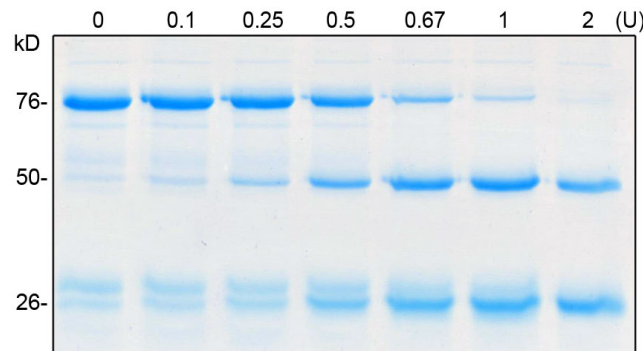


图1. TEV Protease切割GST标签蛋白的效果图。含有TEV Protease识别位点的76kD GST标签蛋白与TEV Protease进行反应,底物的用量为3μg,酶的用量依次为0、0.1、0.25、0.5、0.67、1、2U,30°C在1X TEV Buffer中反应1小时后取样进行SDS-PAGE电泳和考马斯亮蓝染色。酶切产物大小约为50kD的目的蛋白和约26kD的GST标签。

- 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10000单位的酶,可用于约30mg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   |
|---------|----------------------|------|
| P2308-1 | TEV Protease (1U/μl) | 10ml |
| P2308-2 | 10X TEV Buffer       | 20ml |
| —       | 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 <sub>2</sub> 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。在实际操作过程中，如果有必要，还可以在反应的不同时间点取少量样品，后续通过电泳分析来确定优化的反应时间。

### 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 2016.09.26