

产品概述

TEV Protease 是我公司研发的新型蛋白酶产品。本产品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)、MBP (Maltose-Binding Protein)、His 或者其它标签。其序列专一性远比凝血酶、Xa 因子、肠激酶等蛋白酶高。TEV Protease 对咪唑有一定的耐受性, 在 400 mM 咪唑中仍有较高活力。TEV Protease 的分子量为 27 kDa, 自带 His 标签, 完成酶切后可以通过与镍柱结合而去除。

规格

Components	BR4B101-01 1,000 U	BR4B101-02 5,000 U	BR4B101-03 10,000 U
TEV Protease (10 U/ μ L)	1 $\times$ 0.1 mL	1 $\times$ 0.5 mL	2 $\times$ 0.5 mL
10 $\times$ TEV Protease Reaction Buffer	1 $\times$ 1 mL	5 $\times$ 1 mL	10 $\times$ 1 mL

活性定义

在 1 $\times$ TEV Protease Buffer (50 mM Tris-HCl, 0.5 mM EDTA, 1 mM DTT, pH 7.5) 的 10 μ L 总反应体系中, 30 $^{\circ}$ C 反应 1 h, 能够切割 2 μ g 对照底物达 95% 以上所需要的酶量为 1 个活性单位 (U)。

保存条件

-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C 存储。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途, 不用于临床诊断。
2. 使用前应混匀, 避免反复冻融。
3. 根据实际情况 30 $^{\circ}$ C 反应时间可保持在 1 h、2 h、4 h 或 6 h。
4. 利用基因工程表达的 TEV Protease 的最佳酶切温度是 30 $^{\circ}$ C, 在 29 $^{\circ}$ C-34 $^{\circ}$ C 范围内均具有较高的酶活性, 但当温度达到或高于 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 酶切过夜。

反应体系配制

反应体系配置 (冰上操作):

Components	Volume per Reaction	Concentration in Master Mix
10 $\times$ TEV Protease Reaction Buffer	5 μ L	1 $\times$
TEV Protease (10 U/ μ L)	1 μ L	0.2 U/ μ L
Substrate Protein	15 μ g	--
ddH ₂ O	To 50 μ L	--

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

反应条件

将反应混合物放置于 30 $^{\circ}$ C 反应 1 h 或者 4 $^{\circ}$ C 反应过夜 (16 小时左右)。