

TEV Protease (His-tag)

产品编号	产品名称	包装
P2308	TEV Protease (His-tag)	10000U

产品简介:

- TEV Protease (His-tag)是一种在大肠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 (耐还原螯合型) (P2210/P2218/P2220)或His标签蛋白纯化试剂盒(耐还原螯合型) (P2226)以及碧云天的BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型) (P2233)或His标签蛋白纯化试剂盒(耐变性剂型) (P2229S)。
- 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。
- 碧云天TEV Protease (His-tag)比较适用于酶切带His标签的蛋白,因为酶切后没有完全酶切的His标签重组蛋白、切除下来的His标签以及TEV Protease (His-tag)都可以结合于镍柱而被除去,穿柱液中则含有所需的靶蛋白。
- 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 (His-tag)酶活性鉴定结果可参考图1。

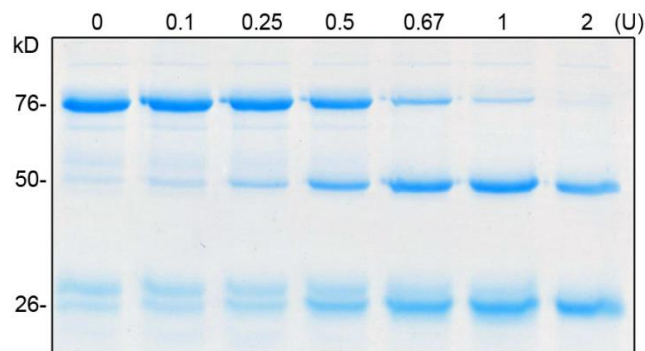


图1. TEV Protease (His-tag)切割GST标签蛋白的效果图。含有TEV Protease识别位点的76kD GST标签蛋白与TEV Protease进行反应,底物的用量为3μg,酶的用量依次为0、0.1、0.25、0.5、0.67、1、2U,30°C在1X TEV Buffer中反应1小时后取样进行SDS-PAGE电泳和考马斯亮蓝染色。酶切产物大小为约50kD的目的蛋白和约26kD的GST标签。

- 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 (His-tag) (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 ₂ O	X
10X TEV Buffer	5
标签蛋白(8μg)	Y
TEV Protease (His-tag) (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 (耐还原螯合型)	10ml
P2218	BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐还原螯合型)	100ml
P2220	BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐还原螯合型)	1000ml
P2226	His标签蛋白纯化试剂盒(耐还原螯合型)	10ml
P2229S	His标签蛋白纯化试剂盒(耐变性剂型)	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
P2233-10ml	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型)	10ml
P2233-100ml	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型)	100ml
P2233-1000ml	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型)	1000ml
P2302	PreScission Protease	100U
P2303	PreScission Protease	500U
P2307	TEV Protease (His-tag)	1000U
P2308	TEV Protease (His-tag)	10000U
P2310S	TEV Protease (GST/His-tag)	1000U
P2310M	TEV Protease (GST/His-tag)	10000U
D2905	pET-N-His-TEV	1μg

Version 2022.06.24