

SUMO Protease

产品编号	产品名称	包装
P2312S	SUMO Protease	200U
P2312M	SUMO Protease	1000U
P2312L	SUMO Protease	5000U

产品简介:

- 碧云天生产的 SUMO Protease (Small Ubiquitin-related Modifier Protease), 是一种重组表达的高度特异性识别 SUMO 化修饰或 SUMO 结构域, 并水解 SUMO 羧基端(C 端) x-Gly-Gly-x 肽段中 Gly-Gly 后的肽键, 从而去除 SUMO 化修饰或者去除 SUMO 融合表达蛋白中 SUMO 结构域的蛋白酶。本产品是一种来自 *Saccharomyces cerevisiae* 的高活性的半胱氨酸蛋白酶(cysteiny protease) Ulp1 (Ubl-specific protease 1, ubiquitin-like protein-specific protease 1)基因片段的重组表达蛋白。
- SUMO 是一种泛素样蛋白(Ubiquitin-like Protein), 是一种非常常见蛋白翻译后修饰(post-translation modification, PTM), 对于蛋白的稳定性、生物学功能有重要的调节作用。
- SUMO 也常被作为一种非常高效和有用的标签用于蛋白的表达纯化, 例如碧云天的 D2918 pET-N-His-PreScission-SUMO 质粒就是一种在 N 端同时表达 His 标签和 SUMO 标签的原核表达质粒。将 SUMO 作为标签和目的蛋白的氨基端(N 端)进行融合表达时可以改善目的蛋白的折叠, 提高目的蛋白的可溶性和产量。随后使用 SUMO Protease 对 SUMO 融合蛋白进行酶切, 去除 SUMO 标签就可以获得完全没有标签蛋白干扰的目的蛋白。因此 SUMO Protease 可以高效且特异性地用于从重组融合蛋白上完全切割去除 SUMO 标签, 从而最大限度地减少了对目的蛋白结构和功能的影响。
- SUMO Protease 进行酶切时的最适 pH 值为 8.0, 最佳酶切温度为 30°C。但 SUMO Protease 在较宽的 pH 范围(6.0-10.0)在较宽的温度范围(2~30°C), 较宽的离子强度范围(0-400mM NaCl)内均具有较高的酶活性。在实际操作过程中, 为尽量保持目的蛋白的结构和生物活性, 建议在 4°C 用 SUMO Protease 酶切过夜。SUMO Protease 在还原剂 DTT(0.5~2mM)存在的情况下酶切活性更高, 酶切体系中加入适当浓度 DTT 可以显著提高酶切效率, 尤其是在长时间的酶切过程中, 例如 4°C 酶切过夜。
- 推荐使用带有 His/SUMO 双标签的碧云天研发生产的原核表达质粒 pET-N-His-PreScission-SUMO (D2918)用于融合蛋白的构建, 在使用镍柱纯化介质(BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐还原整合型) (P2210/P2218/P2220)和 BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐变性剂型) (P2233))纯化带有 His/SUMO 双标签的融合蛋白后, 使用 SUMO Protease 可以将 His 和 SUMO 标签同时切除, 而目的蛋白的 N 端可以不残留任何额外的氨基酸残基。碧云天生产的 SUMO Protease 因为带有 His 标签, 也可以和融合蛋白的 His-SUMO 标签一起通过与镍柱结合而非常方便地一起去除。
- **活性定义:** One unit of SUMO Protease cleaves ≥85% of 2μg control substrate in 1 h at 30 °C。
- 碧云天生产的SUMO Protease酶活性鉴定结果可参考图1。

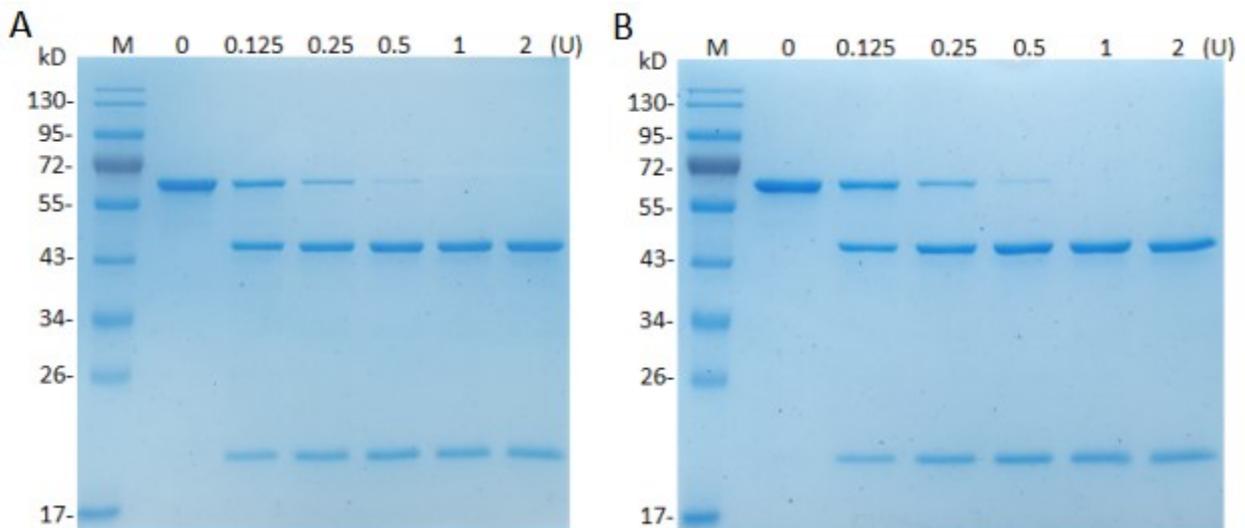


图1. 碧云天SUMO Protease酶切带有SUMO标签的目的蛋白的效果图。每个样品纯化的SUMO融合蛋白2μg, SUMO Protease的用量从左至右依次为0、0.125、0.25、0.5、1和2U, 30°C酶切反应1h后取样进行SDS-PAGE电泳和考马斯亮蓝染色。图A使用的酶切缓冲液为1X SUMO Protease Buffer + Salt, 图B使用的酶切缓冲液为1X SUMO Protease Buffer - Salt。

- **来源:** 碧云天生产的SUMO Protease通过大肠杆菌重组、表达和纯化而获得, 纯度≥95%。
- **酶储存溶液:** 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 250mM NaCl, 0.1% Igepal, 0.5mM DTT, 50% (v/v) glycerol。
- **10X SUMO Protease Buffer - Salt:** 500mM Tris-acetate, 2% Igepal, 10mM DTT, pH 8.0 at 25°C。
- **10X SUMO Protease Buffer + Salt:** 500mM Tris-acetate, 1.5M NaCl, 2% Igepal, 10mM DTT, pH 8.0 at 25°C。
- 本产品200U、1000U和5000U包装, 分别可用于约0.4mg、2mg和10mg带有SUMO标签的融合蛋白的酶切。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P2312S-1	SUMO Protease (10U/μl)	20μl
P2312S-2	10X SUMO Protease Buffer + Salt	400μl
P2312S-3	10X SUMO Protease Buffer - Salt	400μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P2312M-1	SUMO Protease (10U/μl)	100μl
P2312M-2	10X SUMO Protease Buffer + Salt	2ml
P2312M-3	10X SUMO Protease Buffer - Salt	2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P2312L-1	SUMO Protease (10U/μl)	500μl
P2312L-2	10X SUMO Protease Buffer + Salt	10ml
P2312L-3	10X SUMO Protease Buffer - Salt	10ml
—	说明书	1份

保存条件:

-80°C保存, 至少一年有效。须注意避免反复冻融。

注意事项:

- 为获得最好的酶切效果, 须保证待酶切的重组蛋白为完全纯化的蛋白。
- 对于大部分融合蛋白, SUMO Protease 最理想的反应缓冲液液中 NaCl 的浓度为 150mM。根据实际情况可在 0~300mM 之间调节 NaCl 的浓度以达到最佳的酶切效果。
- 融合蛋白酶切反应中咪唑的终浓度不应高于 150mM, 否则可能会影响 SUMO Protease 的酶切效率。
- 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. **酶切条件的优化。** 由于不同目的蛋白具有不同的特性, 所以在实际使用时, 建议对酶和待酶切的目的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. 按下表在1.5ml离心管中配置反应体系(以20μl体系为例, 无盐和有盐的缓冲液可任选一种, 或两种同时做平行实验):

Component	Volume (μl)
H ₂ O	X
10X Reaction Buffer -/+ Salt	20
SUMO-tag Protein (20μg)	Y
SUMO Protease (10U/μl)	0, 0.5 or 1
Total	200

注: 如果带有 SUMO 标签的目的蛋白浓度为 5μg/μl, 那么 $Y = 20/5 = 4$, 即须使用 4μl 5μg/μl 的目的蛋白。

- b. 将反应混合物放置于 30°C 反应 1、2、4 或 6h。如果目的蛋白在 30°C 不太稳定, 可以考虑 4°C 反应过夜(16h 左右)。正常情况下按照上述反应体系, 无论 30°C 反应 1h 还 4°C 反应 16h, 应该都可以充分剪切并去除 SUMO 标签的。
- c. 带有 SUMO 标签的目的蛋白酶切反应的温度与时间, 可以视情况进行适当调整, 具体参考如下表格。

反应温度	反应时间
4°C	15-16h
16°C	4h
25°C	1.5h
30°C	1h

- d. 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, 还可以在上述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。

注：如果目的蛋白要求低温，可将反应体系置于 4°C，延长反应时间，并适当增加 SUMO Protease 用量，以确保酶切效果。

2. **酶切与纯化。**后续可以按照上述优化的反应条件，放大反应体系进行目的蛋白SUMO标签的切除反应。反应结束后，可以通过镍柱结合去除切除下来的带有His标签的SUMO标签，以及带有His标签的本产品SUMO Protease，从而获得高纯度的去除了SUMO标签的目的蛋白。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D2902-1µg	pET-N-His-C-His	1µg
D2902-100µg	pET-N-His-C-His	100µg
D2905-1µg	pET-N-His-TEV	1µg
D2905-100µg	pET-N-His-TEV	100µg
D2908-1µg	pET-N-His-Thrombin-C-His	1µg
D2908-100µg	pET-N-His-Thrombin-C-His	100µg
D2911-1µg	pET-N-GST-Thrombin-C-His	1µg
D2911-100µg	pET-N-GST-Thrombin-C-His	100µg
D2916-1µg	pET-N-GST-PreScission	1µg
D2916-100µg	pET-N-GST-PreScission	100µg
D2918-1µg	pET-N-His-PreScission-SUMO	1µg
D2918-100µg	pET-N-His-PreScission-SUMO	100µg
D2931-1µg	pET-Dual-N-GST	1µg
D2931-100µg	pET-Dual-N-GST	100µg
D2933-1µg	pET-Dual-N-GST-PreScission	1µg
D2933-100µg	pET-Dual-N-GST-PreScission	100µg
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
P2312S	SUMO Protease	200U
P2312M	SUMO Protease	1000U
P2312L	SUMO Protease	5000U
AH367	His-tag 抗体	>20 次
AG768	GST 抗体	>20 次
AF0174	GST Mouse Monoclonal Antibody	50µl

Version 2021.12.03