

重组SENP2蛋白酶(His-tag)

产品编号	产品名称	包装
P2313-500U	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	500U
P2313-2KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	2KU
P2313-10KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	10KU
P2313-50KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	50KU

产品简介:

- 碧云天生产的重组SENP2蛋白酶(His-tag), 即Recombinant SENP2 (His-tag)或rSENP2 (His-tag), 是一种通过*E.coli*重组表达的包含人源SENP2的酶活结构域(Asp364-Leu589)和His标签的蛋白酶, 理论分子量为26.8kDa, 常用于体外去SUMO化修饰(DeSUMOylation)反应, 或切除融合表达的重组蛋白的SUMO1、SUMO2或SUMO3标签。
- rSENP2不识别特定的氨基酸序列, 而是高度特异性地识别人源SUMO1/2/3三维结构特征, 并在其尾部QTGG/X氨基酸残基之间进行高效酶切, 释放成熟形式的SUMO1/2/3, 可用于体外去SUMO化修饰反应或移除融合表达的重组蛋白的SUMO标签。
- 本产品N端带有His-tag, 可以通过相应的抗体检测或通过镍柱吸附去除。
- 类泛素蛋白修饰分子(Small ubiquitin-like modifier, SUMO), 也被称为泛素样修饰因子小蛋白、泛素样小分子修饰因子或小泛素相关修饰物, 是一个广泛存在于真核生物的蛋白家族。在人体中共有4种SUMO: SUMO1、SUMO2、SUMO3和SUMO4, 长度约100aa, 理论分子量约12kDa, 在氨基酸水平SUMO1与SUMO2的相似度为43%, SUMO2与SUMO3的相似度为96%, SUMO2与SUMO4的相似度为87% [1]。与泛素化(Ubiquitination)类似, SUMO通过类泛素蛋白(Ubiquitin-like proteins, Ubls)活化酶(Ubl activating enzyme, E1)、结合酶(Ubl conjugating enzyme, E2)和连接酶(Ubl protein ligase, E3)共价连接到特定蛋白的赖氨酸上, 这一过程被称为SUMO化修饰(SUMOylation)。SUMO化修饰是一种翻译后修饰, 参与细胞的调控, 如细胞内转运、转录调控、细胞凋亡、蛋白质稳定性、压力应激和细胞周期等的调控等[2]。
- 人体中共有7种SENPs (Sentrin-specific proteases): SENP1、SENP2、SENP3、SENP5、SENP6、SENP7和SENP8, 其中SENP8作用于泛素家族成员NEDD8, 其余6种SENPs可以识别、切割并释放成熟形式的SUMO1/2/3用于SUMO化修饰, 也可以去SUMO化修饰, 即将连接到特定蛋白赖氨酸上的SUMO1/2/3切除(图1) [3]。碧云天的SUMO Protease (P2312)是一种来自*Saccharomyces cerevisiae*的高活性的半胱氨酸蛋白酶(cysteinyI protease) Ulp1 (Ubiquitin-like protein-specific protease 1)基因片段的重组表达蛋白, 可以水解SUMO羧基端(C端) x-Gly-Gly-x肽段中Gly-Gly后的肽键, 和本产品识别的SUMO标签有所不同, 不能相互替换。同时本产品和SUMO Protease (P2312)也都不能切割SUMO^{EU1}标签。

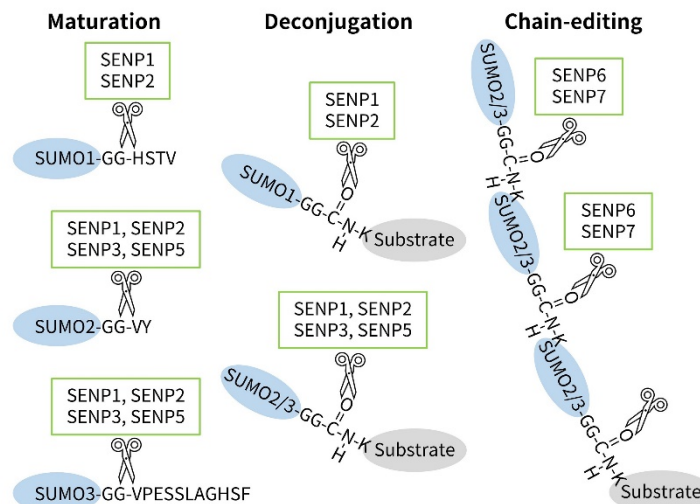


图1. 人源SENPs加工处理SUMO1/2/3和去SUMO化修饰示意图。

- SUMO3标签(SUMO3-tag)融合于目的蛋白N端已广泛应用于大肠杆菌体系的重组蛋白表达纯化, SUMO3标签作为分子伴侣辅助融合目的蛋白的折叠, 增加重组蛋白的表达量, 改善溶解性, 保护目的蛋白不被降解。SUMO3标签与GST (Glutathione S-transferase)、MBP (Maltose binding protein)、Trx (Thioredoxin)、NusA (Transcription termination anti-termination factor)和Dsba (Protein disulfide isomerase I)等常用融合标签相比体积更小, 而且不需要在融合标签和目的蛋白之间添加TEV (Tobacco etch virus)、EK (Enterokinase)或Ila (Thrombin)等蛋白酶酶切位点。SUMO3标签三维结构可以被

rSENP2高特异性地识别，并在其尾部2个连续的Gly氨基酸残基处高效酶切，从而释放融合表达的目的蛋白，便于SUMO3标签的移除[4,5]。碧云天生产的重组SENP2蛋白酶(His-tag)酶切SUMO3标签融合蛋白的效果参考图2。

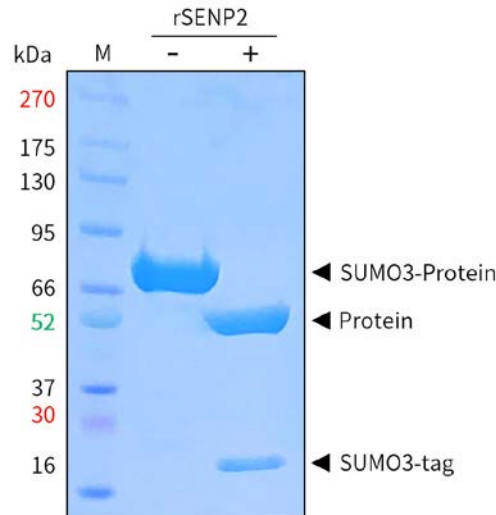


图2. 碧云天重组SENP2蛋白酶(His-tag) (P2313)酶切SUMO3标签融合蛋白的效果图。在20 μ l反应体系中，加入10 μ g SUMO3标签融合蛋白及1 μ l经100倍稀释的重组SENP2蛋白酶(His-tag)，37 $^{\circ}$ C孵育1小时后，加入4 μ l SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(6X) (P0289)，混匀后95 $^{\circ}$ C加热5分钟，使用BeyoGel™ Plus PAGE预制胶(P0520)进行电泳检测并使用BeyoBlue™考马斯亮蓝超快染色液(P0017F)染色。实际效果会因样品种类、检测仪器等的不同而存在差异，图中效果仅供参考。

➤ 本产品的基本信息如下表：

蛋白信息(About this protein)	
名称(Name)	重组SENP2蛋白酶(His-tag)
别名(Synonyms)	SUMO Protease 2, Sentrin/SUMO-specific protease 2, Axam2, SMT3-specific isopeptidase 2, KIAA1331
分子量(kDa)	26.8kDa
外观(Physical appearance)	液体
活性(Biological activity)	10U/ μ l or 100U/ μ l
活力单位(Unit definition)	One unit is defined as the amount of enzyme required to digest 90 μ g of SUMO3-EGFP protein in 1 hour at 37 $^{\circ}$ C, to the extent that the accumulation of SUMO3-tag and EGFP as determined by SDS-PAGE.
浓度(Concentration)	~0.1mg/ml or ~1mg/ml
纯度(Purity)	\geq 95% by SDS-PAGE, other protease activity not detected.
储存液(Storage buffer)	5mM Tris (pH7.4), 250mM NaCl, 5mM DTT, 50% Glycerol
产品用途(Applications)	rSENP2常用于移除融合蛋白的SUMO3标签；也可高度特异性地识别人源SUMO1/2/3三维结构特征，并在其尾部QTGG/X氨基酸残基之间进行高效酶切释放成熟形式的SUMO1/2/3；也可于体外去SUMO化修饰(DeSUMOylation)反应。

- rSENP2最佳酶切温度为37 $^{\circ}$ C，在较宽的pH范围(6.0-10.0)，较宽的温度范围(2-37 $^{\circ}$ C)，较宽的离子强度范围(0-1M NaCl, 0-500mM Imidazole)内均具有较高的酶活性。在实际操作过程中，建议4 $^{\circ}$ C酶切过夜以尽可能保持重组蛋白的活性。rSENP2在0.5-2mM DTT存在的情况下酶活性更高，建议酶切体系中加入适当浓度的DTT以提高酶切效率。
- rSENP2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-4、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rSENP2的酶活力。
- 本产品用于移除重组蛋白SUMO3标签酶切反应时，如果按照1mg SUMO3标签融合的重组蛋白使用1 μ l rSENP2 (100U/ μ l)在4 $^{\circ}$ C酶切过夜，本产品的500U、2KU、10KU和50KU包装，分别可用于约5mg、20mg、100mg和500mg带有SUMO3标签融合重组蛋白的酶切。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P2313-500U	rSENP2 (His-tag, 10U/ μ l)	50 μ l
P2313-2KU	rSENP2 (His-tag, 100U/ μ l)	20 μ l
P2313-10KU	rSENP2 (His-tag, 100U/ μ l)	100 μ l
P2313-50KU	rSENP2 (His-tag, 100U/ μ l)	500 μ l
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 两年有效。

注意事项:

- 本产品含50%甘油, -20°C保存不会冻结。须避免-80°C保存, 冻融可能会降低本产品的酶活性。
- 本产品较为粘稠, 吸取时需注意取样量准确, 加样后请注意充分吹打混匀, 避免产生气泡。
- 请仔细核对所使用的SUMO3标签是否适合本产品。不同的SUMO3标签可能需要使用不同的相应蛋白酶的。
- 本产品的酶活性与SUMO3标签和目的蛋白形成的融合蛋白的空间结构有较大的相关性, 实测对于一些SUMO3标签融合蛋白的活性可以达到说明书标注的活性, 但对于某些SUMO3标签融合蛋白的酶切活性会差别比较大。对于遇到本产品酶活性相对较低的情况, 需要大幅度加大酶的用量。如果希望获得更高的酶切活性, 此时建议在许可的范围内适当增减目的蛋白与SUMO3标签连接处的氨基酸序列, 以获得更好的酶切效果。
- 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SUMO3标签融合的重组蛋白具有不同的特性, 为获得比较理想的实验效果, 建议对酶和待酶切的SUMO3标签融合蛋白的使用比例进行适当优化, 按照如下步骤摸索rSENP2的理想用量。

- a. 取1 μ l rSENP2 (100U/ μ l)加入到99 μ l Reaction Buffer (需用户自备)中, 将rSENP2稀释至1U/ μ l。

注: 由于rSENP2在较宽的pH范围(6.0-10.0), 较宽的温度范围(2-37°C), 较宽的离子强度范围(0-1M NaCl, 0-500mM Imidazole)内均具有较高的酶活性, 因此对Reaction Buffer组分不作特定限制, 但是在0.5-2mM DTT存在的情况下rSENP2的酶活性更高, 可根据实验需要决定酶切体系中是否加入适当浓度的DTT。

- b. 请参考下表在1.5ml离心管中配制反应体系。

Component	Volume
SUMO3-tag Protein (10 μ g)	x μ l
rSENP2 (1U/ μ l)	0, 1, 5 or 10 μ l
Reaction Buffer	To 20 μ l

- c. 进行酶切反应。温度与时间可以视情况进行适当调整, 具体请参考下表。

Temperature	Time
4°C	overnight
16°C	4h
25°C	2h
37°C	1h

- d. 加入4 μ l SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(6X) (P0289), 混匀后95°C加热5分钟, 使用BeyoGel™ Plus PAGE预制胶(P0520)进行电泳检测并使用考马斯亮蓝(P0017F)染色。

- e. 观察考马斯亮蓝染色的SDS-PAGE胶, SUMO3标签被完全切除是比较理想的rSENP2酶用量, 可按照等比例放大应用到后续的酶切反应中。

- f. 如按照上述操作, SUMO3标签没有被完全切除, 可以尝试增加rSENP2酶用量, 延长酶切时间或提高酶切温度, 以获得最佳的酶切效果。

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SUMO3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SUMO3标签, 以及带有His标签的本产品重组SENP2蛋白酶, 从而获得高纯度的去除了SUMO3标签的目的蛋白。也可以对于同时带有His标签的SUMO3标签的融合表达蛋白进行在柱酶切, 即在镍柱或GST柱结合带有His标签的SUMO3标签的融合蛋白时, 进行rSENP2 (His-tag)的酶切, 酶切后如果镍柱容量足够, rSENP2 (His-tag)和酶切下来的带有His标签的SUMO3标签都会结合在镍柱上, 仅目的蛋白会被洗脱下来。

参考文献:

1. Reverter D, Lima CD. Nat Struct Mol Biol. 2006. 13(12):1060-8.
2. Hay RT. SMol Cell. 2005. 18(1):1-12.
3. Nayak A, Müller S. Genome Biol. 2014. 15(7):422.
4. Marblestone JG, Edavettal SC, Lim Y, Lim P, Zuo X, Butt TR. Protein Sci. 2006. 15(1):182-9.
5. Butt TR, Edavettal SC, Hall JP, Mattern MR. Protein Expr Purif. 2005. 43(1):1-9.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P2312S	SUMO Protease	200U
P2312M	SUMO Protease	1000U
P2312L	SUMO Protease	5000U
P2313-500U	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	500U

P2313-2KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	2KU
P2313-10KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	10KU
P2313-50KU	重组SENP2蛋白酶(His-tag)	50KU
D3007-1μg	pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒)	1μg
D3007-100μg	pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒)	100μg
D3009-1μg	pET-N-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1μg
D3009-100μg	pET-N-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100μg
D3015-1μg	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1μg
D3015-100μg	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100μg
D3017-1μg	pET-Dual-His-SUMO3-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1μg
D3017-100μg	pET-Dual-His-SUMO3-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100μg

Version 2022.06.04