

重组 TEV 蛋白酶 (TEV protease)

产品名称: 重组 TEV 蛋白酶 (TEV protease)

产品规格: 500U/1000U/10KU

产品货号: ATB08043

储存条件: -20°C, 12 个月

产品简介:

重组型 TEV 蛋白酶 (rTEV) 是经过基因工程改造和纯化后的重组蛋白酶, 不仅保持天然 TEV 酶的功能活性, 且在广泛的温度范围内表现出更强的稳定性和特异性。rTEV 是一种用来切除融合蛋白上亲和和标签的常用工具酶, 具有很强的位点特异性, 严格识别七氨基酸序列 EXXYXQ↓(G/S), 切割位点在谷氨酰胺和甘氨酸/丝氨酸之间。普遍应用的七氨基酸序列为: Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln↓-Gly。rTEV 在 pH 7.0, 30°C 时可达到最佳活性, 但在 pH 6.0-8.5 和温度 4-30°C 的广泛范围内皆有活性 (见表 1), 使得反应条件的选择可根据目的蛋白的情况而灵活变动。另外 rTEV 切割后也能利用其 N 端的 6×His 标签, 通过 Ni-NTA 树脂去除, 以达到纯化目的蛋白的目的。

产品信息:

来源: E.coli

纯度: 经 SDS-PAGE 及 HPLC 分析, 纯度 > 95%

缓冲液组分: 50 mM Tris, pH 8.0, 0.5 mM EDTA, 1 mM DTT

比活性: 5U/ul

酶活定义:

在 1×rTEV Buffer (50 mM Tris, pH 8.0, 0.5 mM EDTA, 1 mM DTT) 中, 30°C 反应 1 h, 剪切 >85% 的 3 μg 底物所需要的酶量定义为一个活性单位。

使用方法:

1) .在 EP 管中配制如下反应体系。

组分	用量
融合蛋白	20 µg
rTEV Protease (5 U/µL)	2-4 µL
rTEV buffer (20×)	7.5 µL
DDW (超纯水)	up to 150 µL

2) .30°C 孵育, 在 1、2、4、6 小时分别吸出 30 µL 上述反应液, 置于单独的 EP 管中。

3) .向上述 EP 管中加入 30 µL 2×SDS Loading Buffer, 置于-20°C。

4) .样品全部反应完毕后, 样品煮沸 5 min, 取 40 µL 进行 SDS-PAGE 分析。确定最佳反应时间。如融合蛋白要求低温处理, 可将反应液置于 4°C, 延长反应时间, 并增加 rTEV 酶用量, 以保证酶切效果。

注意事项:

1) .影响天然 TEV 酶活性的常见因素: 1) PMSF 和 AEBSF (1 mM) , TLCK (1 mM) , Bestatin (1 mg/mL) , EDTA (1 mM) , Pestatins A (1 mM) 以及 E-64 (3 mg/mL) , 而 rTEV 可兼容上述抑制剂; 2) Zn 离子浓度 (>5 mM) , 同样对 rTEV 活性有抑制; 3) 与半胱氨酸反应的试剂, 也是 rTEV 的潜在抑制剂。

2) .为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

***本试剂仅供实验室研究使用**