TEV Protease

目录

1. 产品介绍.....1
2. 操作步骤.....1
3. 补充信息.....1
4. 订购信息及相关产品.....2

1. 产品介绍

1.1 产品简介

TEV Protease（TEV 酶 ）是来源于烟草蚀纹病毒（TEV）的重组蛋白酶，经改造后与天然 TEV 酶相比其稳定性更好，常被用来切除纯化后融合蛋白的亲和标签。TEV 酶具有很强的位点特异性，能够识别 EXXYXQ (G/S) 的七氨基酸序列，最常用的是 ENLYFQG，其切割位点在谷氨酰胺和甘氨酸或丝氨酸之间。蛋白酶在 G/S（或 P1）位点切割多种氨基酸序列，为切割后的融合部分提供一个想要的 N 端氨基酸。此蛋白酶该酶在 pH 7.0，30℃时可达到最佳活性，但在 pH 6.0-8.5 和 4-30℃的广泛范围内 TEV 酶皆有活性，使得反应条件的选择可根据目的蛋白的情况而修改。重组 TEV 酶 N 端带有 His 标签，使得溶液状态酶切反应完后，可以通过 Ni NTA Beads（Smart-Lifesciences，Cat. No. SA004010）去除。当进行柱酶切时，则可以将目的蛋白从固定在介质上的融合蛋白上直接切下。该产品不提供酶切的缓冲液。

1.2 产品包装和储存

TEV protease (10 U/μl) ，浓度 1 mg/ml。长时间可存放于-20℃或-80℃。大包装用前可分装成小管，请勿反复冻融。

1.3 活性单位定义

在酶切缓冲液中，30℃条件下反应 1 小时，能够切割 3 μg 反应底物达 85%以上，所需的酶量定义为一个活性单位。

1.4 酶切缓冲液

50 mM Tris，0.5 mM EDTA，1 mM DTT，pH 8.0。

2. 操作步骤

1）加入下列试剂于微量离心管中。

组分	质量/体积
Fusion Protein	20 μg
10×Buffer (0.5 M Tris-HCl，5 mM EDTA，pH 8.0)	15 μl
0.1 M DTT	1.5 μl
TEV Protease (10 units)	1.0 μl
Water	to 150 μl

2）取四支离心管，每支加入 30 μl，分别于 30℃孵育 1，2，4，6 小时。

3）反应完后加入 30 μl 2×Sample Loading Buffer (125 mM Tris-HCl，4% SDS，1.4 M β-mercaptoethanol，20% (v/v) glycerol，0.01% bromophenol blue，pH 6.8) 。样品 100℃加热 10 min。

4）每管取 20 μl 进行 SDS-PAGE 电泳确定酶切效率。

5）通过酶切结果，优化 TEV 酶的用量、孵育温度和孵育时间来确定最佳的反应条件。

3. 补充信息

下表为 1 个单位的 TEV Protease 在不同温度下酶切 3 μg 底物的酶切百分比数据。如果需要酶切更多的底物，而不增加酶用量的情况下，可以延长孵育时间来达到酶切效果，亦可以在不改变反应时间的情况下，增加酶的用量。

酶切百分比（%）				
时间/温度	4℃	16℃	21℃	30℃
0.5 小时	36	62	72	85
1 小时	58	85	99	99
2 小时	77	99	99	99
3 小时	88	99	99	99

4. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
TEV Protease	SLP00600	1 mg
	SLP00601	10 mg