



# 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°C 时可达到最佳活性, 但在 pH 6.0-8.5 和 4-30°C 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树脂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°C 或 -80°C。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°C 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°C 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°C 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。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。

时间/温度	酶切百分比 (%)			
	4°C	16°C	21°C	30°C
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