TEV Protease (with His-tag)

REF: EG24303S

储运条件

-20℃，建议在首次使用时分装保存，避免反复冻融。

产品组成

组分	规格
TEV Protease (10 U/μl)	100 μl
10× TEV Buffer	1 ml

产品简介

TEV Protease (with His-tag) 来源于烟草蚀纹病毒，经基因工程改造并在大肠杆菌中重组表达获得，在保留天然 TEV 酶功能活性的同时，提高了其对 pH 和温度的耐受性。TEV Protease 是一种高度特异性的半胱氨酸蛋白酶，常用于切除融合蛋白上的亲和标签。TEV Protease 严格识别七氨基酸序列 EXXYXQ↓(G/S)，并在谷氨酰胺和甘氨酸 / 丝氨酸之间进行切割，常用的七氨基酸序列是 Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln↓-Gly。TEV Protease (with His-tag) N 端带有 His 标签，使其可以在酶切完成后通过 Ni 亲和层析去除，以达到纯化目的蛋白的目的。

活性定义

1 活性单位 (U) 定义为在 1× TEV Buffer 中，30℃反应 1 h，剪切 >85% 的 3 μg 底物所需要的酶量。

储存缓冲液

50 mM Tris-HCl；250 mM NaCl；10 mM DTT；1 mM EDTA；50% Glycerol；pH 7.5 @ 25℃。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

非特异性蛋白酶活性

30℃下，在 50 μl 反应体系中将 10 U TEV Protease (with His-tag) 与 3 μg 标准蛋白共同温育 1 h，通过 SDS-PAGE 检测蛋白质混合物没有降解。

使用方法

1. 在 EP 管中配制如下反应体系：

试剂	使用量
底物	20 μg
10× TEV Buffer	5 μl
TEV Protease (10 U/μl)	1 μl
ddH_2O	Up to 50 μl

2. 30℃孵育 1 h 或 4℃过夜（16 h 左右）；
3. 向上述 EP 管中加入 16 μl Protein Loading Buffer (SDS, 4×) (REF: EG21323S)，样品煮沸 10 min，取 10 μl 进行 SDS-PAGE 分析；
4. 根据酶切结果，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。

注意事项

1. 可兼容常见蛋白酶抑制剂，如：抑肽酶、苯甲脒、亮抑酶肽、胃蛋白酶抑制剂、PMSF 等。

2. 可兼容 400 mM 咪唑、2 M 尿素、0.2 M NaCl、10 mM $MgSO_4$、10 mM $MnCl_2$、10 mM $CaCl_2$ 和高达 100 mM 的 EDTA。

3. 该酶在有 ≥40% 甘油、≥ 5 mM Zn^{2+}、≥1 mM Cu^{2+} 和 ≥10 mM Co^{2+} 的反应体系活性会受到抑制。

4. TEV 最佳反应条件为 pH7.0、30℃，但在 pH6~9、4~37℃范围内均有活性，可根据目的蛋白的情况自行选择适宜的反应条件。

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com
最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司，保留一切权利
ISO 13485 高新技术企业
愚公生物微信公众号 愚公生物科研小助手 愚公生物微信视频号