

PreScission Protease

产品编号	产品名称	产品包装
BK2614	PreScission Protease	100U/500U

本公司 PreScission Protease 为大肠杆菌重组表达、带 GST 标签的 3C 蛋白酶 (Human rhinovirus type 14 3C protease)，也称 HRV 3C Protease。它能在低温 (2-8℃) 下特异性识别八肽 Leu-Glu-Val-Leu-Phe-Gln-Gly-Pro 或核心五肽 Leu-Phe-Gln-Gly-Pro，并在 Gln 与 Gly 之间切割，常用于去除融合蛋白的 GST、His 或其他标签。

建议将 GST、His 等标签设计在融合蛋白 N 端，并在标签与目的蛋白之间加入上述识别序列。酶切后，目的蛋白 N 端仅残留两个额外氨基酸 Gly-Pro，可最大程度减少对目的蛋白结构和功能的影响。

本公司 PreScission Protease 含 GST 标签，特别适合酶切带 GST 标签的目的蛋白。融合蛋白在 2-8℃ 过夜酶切后，再次过 GST 纯化柱，PreScission Protease 和 GST 标签蛋白留在柱上，目的蛋白位于流穿液中；收集流穿液即可获得去除 GST 标签的目的蛋白，极大方便了目的蛋白纯化。

酶活性单位定义：30℃ 反应 1.0 小时，能够切割 100μg GST 标签蛋白达 90% 以上所需的酶量定义为一个活性单位。

推荐酶切条件一：PreScission Protease 和融合蛋白按照相应的量混合，2-8℃ 条件下酶切 12-16h；

推荐酶切条件二：PreScission Protease 和融合蛋白按照相应的量混合，30℃ 条件下酶切 1-3h；

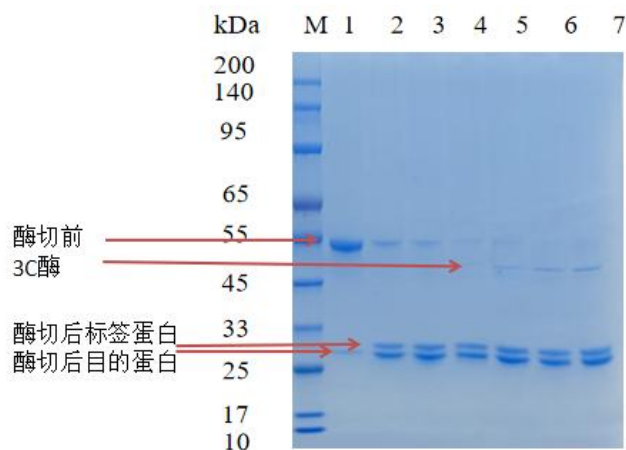


图 1. PreScission Protease 活性鉴定结果图。酶切 0.1mg 融合蛋白，分别加入 3C 酶量依此为 0U、0.4U、0.8U、1U、2U、4U、6U，30℃ 酶切反应 1h 后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

本公司 PreScission Protease 可以在多个温度条件下，对融合蛋白进行酶切。

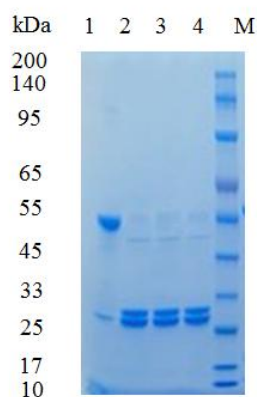


图 2. PreScission Protease 分别在 2-8℃、25℃、30℃对融合蛋白进行酶切图，每个样品酶切 0.1mg 目的蛋白，加入 PreScission Protease 量为 1U，酶切温度依此为 2-8℃酶切 16h、25℃酶切 1.5h、30℃酶切 1h，酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

PreScission Protease 分别在 pH 4.0、5.0、6.0、7.4、8.0、9.0、10.0 条件下对融合蛋白进行酶切；结果显示，最适合 pH 酶切条件为 7.4-9.0。

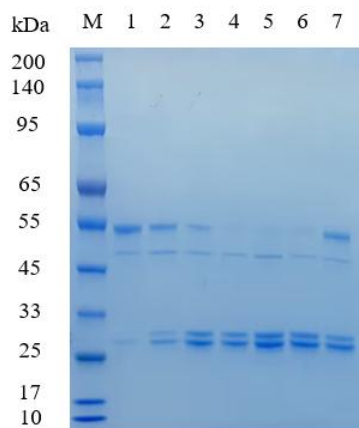


图 3. PreScission Protease 分别在不同 pH 条件下对融合蛋白进行酶切图，样品依此为 pH4.0、5.0、6.0、7.4、8.0、9.0、10.0，每个样品酶切 0.1mg 目的蛋白，加入 PreScission Protease 量为 1U，30℃酶切 1h，酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

本公司 PreScission Protease 可以耐受 500mM NaCl, PreScission Protease 分别在不含 NaCl 和含 500mM NaCl 体系条件下对目的蛋白进行酶切；结果显示，PreScission Protease 在 500mM NaCl 条件下依然可以有效切开目的蛋白。

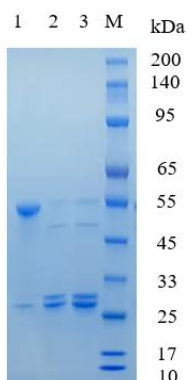


图 4. PreScission Protease 分别在不含 NaCl 和 500mM NaCl 条件下对融合蛋白进行酶切图，样品依此为酶切前、0M NaCl、500mM NaCl，每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白，加入 3C 酶量为 1U，30℃ 酶切 1h，酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

将 PreScission Protease 进行冻融 3 次、-20℃ 保存以及在 2-8℃ 放置 1、3、5、7 天，分别取样对融合蛋白进行酶切，结果显示，反复冻融 3 次及 2-8℃ 放置一周对活性无影响。

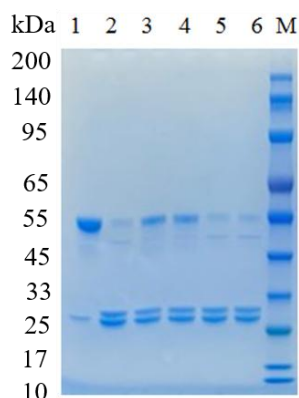


图 5. PreScission Protease 酶切融合蛋白图，样品依此为酶切前、加入-20℃ 保存 PreScission Protease 1U、0.4U、0.6U、1U、1.6U，每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白，30℃ 酶切 1h，酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

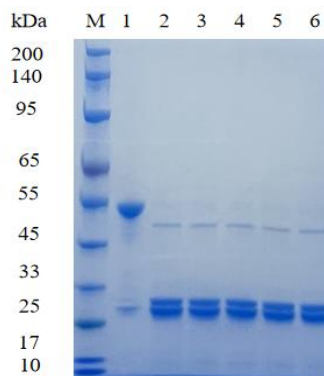


图 6. PreScission Protease 在 2-8℃ 放置 1、3、5、7d 后酶切融合蛋白图，样品依此为酶切前、加入 PreScission Protease (-20℃ 保存)、2-8℃ 1d、3d、5d、7d，每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白，加入 PreScission Protease 量均为 1U，30℃ 酶切 1h，酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。



The Ultimate Research Partner

Building F6, No. 9, Weidi Road,
Qixia District, Nanjing, China
Telephone: 400-660-9091
025-68037686
Email: Nanjing@biogot.com
Website: www.bioworld.com

PreScission Protease 分子量大小约 47 kDa, 纯度 $\geq$ 95%。

PreScission Protease 储存液组成为: 20mM Tris-HCl, 500mM NaCl, 1mM EDTA, 1mM DTT, 40% (v/v) glycerol, pH8.0。

Enzyme Activity: $\geq$ 2 U/ μ L

包装清单:

产品名称	规格
PreScission Protease	100U/500U
10X PreScission Buffer	8mL

保存条件:

-80°C 保存。

该试剂配套 10× Reaction Buffer 中含有 DTT, DTT 对酶活影响较大, 当使用长期贮存或反复冻融的 10× Reaction Buffer 时, 为了保证最大活性, 应补加 10 mM DTT。

注意事项:

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。