

TEV Protease

产品编号	产品名称	产品包装
BK2616	TEV Protease	500U/1000U

TEV Protease (His-tag) 是一种在大肠杆菌中重组表达、带 His 标签 (6×His tag) 的烟草蚀纹病毒 (Tobacco Etch Virus, TEV) 半胱氨酸蛋白酶。它能特异性识别七肽序列 Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln-Gly/Ser, 并在 Gln 与 Gly/Ser 之间切割, 常用于去除融合蛋白的 GST、His 或其他标签。

建议将 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 TEV 识别切割序列。酶切后, 目的蛋白 N 端仅残留一个额外的 Gly/Ser, 可最大程度减少对目的蛋白结构和功能的影响。

本公司 TEV Protease (His-tag) 含 His 标签, 特别适合酶切带 His 标签的目的蛋白。纯化出的融合蛋白使用本公 TEV 酶在 2-8℃ 过夜酶切后, 再次过 Ni Beads 纯化柱, TEV 酶和 His 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 His 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 融合蛋白达 90% 以上所需的酶量定义为一个活性单位。

推荐酶切条件一: TEV 酶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: TEV 酶和融合蛋白按照相应的量混合, 30℃ 条件下酶切 1-3h;

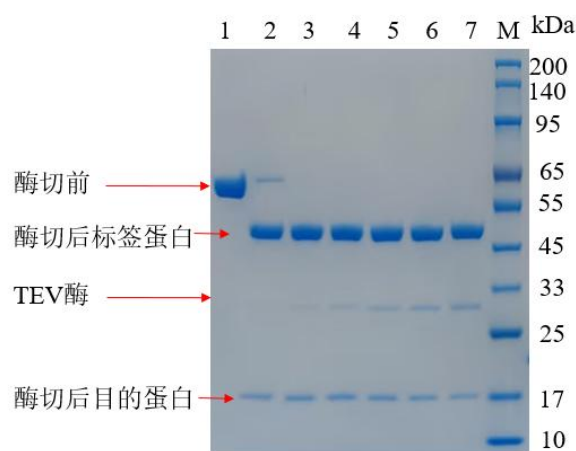


图 1. TEV Protease 活性鉴定结果图。每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白蛋白, 加入 TEV Protease 量依此为 0U、0.5U、1.0U、1.5U、2.5U、3.5U、4.5U, 30℃ 酶切反应 1h 后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

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

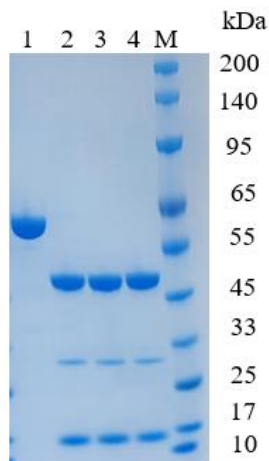


图 2. TEV Protease 分别在 2-8°C、25°C、30°C 对融合蛋白进行酶切图, 每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白, 加入 TEV Protease 量为 1U, 酶切条件依此为 2-8°C 酶切 16h、25°C 酶切 1.5h、30°C 酶切 1h, 酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

本公司 TEV Protease 分别在 pH4.0、5.0、6.0、7.4、8.0、9.0、10.0 条件下对融合蛋白进行酶切, 最适合 pH 酶切条件为 8.0-9.0。

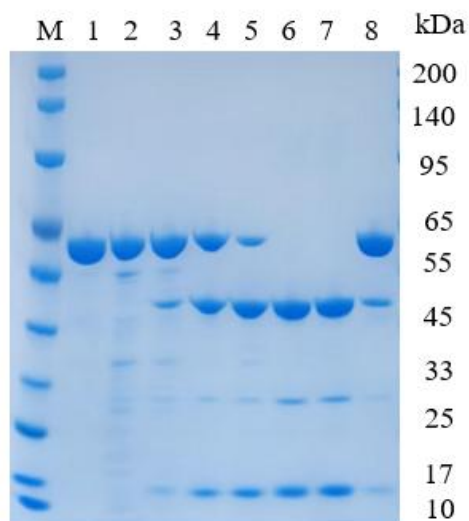


图 3. TEV Protease 分别在不同 pH 条件下对融合蛋白进行酶切图, 样品依此为酶切前、pH4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 体系, 每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白, 加入 TEV Protease 量为 1U, 30°C 酶切 1h, 酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

本公司 TEV Protease 可以耐受 500mM NaCl, TEV 酶分别在不含 NaCl 和含 500mM NaCl 条件下对融合蛋白进行酶切, 结果显示, TEV 酶在 500mM NaCl 条件下依然可以有效切开融合蛋白。

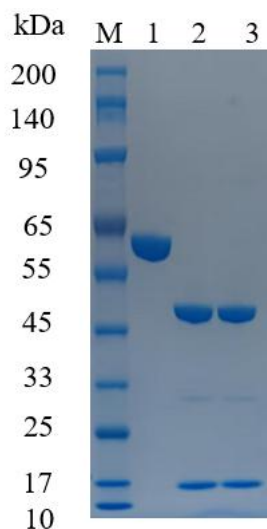


图 4. TEV Protease 分别在不含 NaCl 和含 500mM NaCl 条件下对融合蛋白蛋白进行酶切图, 样品依此为酶切前、0M NaCl、500mM NaCl, 每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白蛋白, 加入 TEV Protease 量为 1U, 30℃ 酶切 1h, 酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

将 TEV Protease 进行反复冻融 3 次、-20℃ 保存以及在 2-8℃ 放置 7 天, 分别取样对融合蛋白蛋白进行酶切, 结果显示, 反复冻融 3 次及 2-8℃ 放置 7 天, 对酶活性无影响。

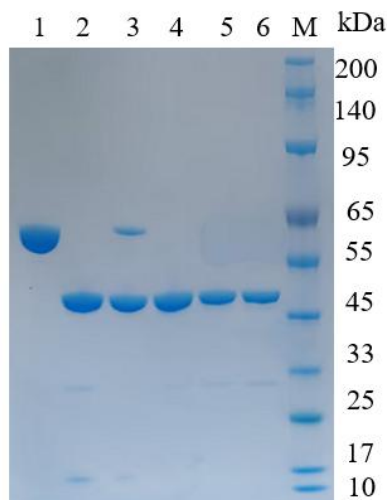


图 5. TEV Protease 冻融 3 次后酶切融合蛋白蛋白图, 样品依此为酶切前、没有冻融加入 TEV 酶 1.0U、冻融 3 次后分别加入 TEV Protease 0.25U、0.5U、1.0U、2.0U, 每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白蛋白, 30℃ 酶切 1h, 酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

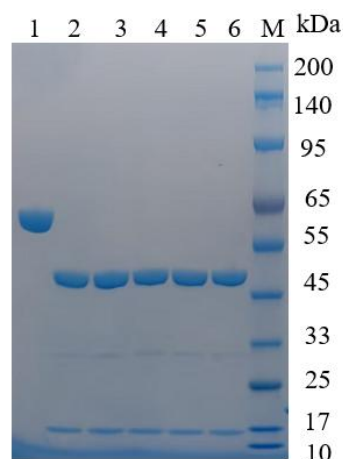


图 6. TEV Protease 2-8℃ 放置 1、3、5、7d 后酶切融合蛋白蛋白图，样品依此为酶切前、加入 TEV Protease 1U (-20℃ 7d)、2-8℃ 1d、3d、5d、7d，每个样品酶切 0.1mg 融合蛋白蛋白，加入 TEV Protease 量为 1U，30℃ 酶切 1h，酶切反应后取样进行 SDS-PAGE 电泳和考马斯亮蓝染色。

TEV Protease 分子量大小约 30kDa，纯度：≥95%。

TEV Protease 储存液组成为：25mM Tris-HCl, 500mM NaCl, 1mM EDTA, 1mM DTT, 10% (v/w) 甘油, pH8.0。

Enzyme Activity: ≥1 U/μL

包装清单:

产品名称	包装
TEV Protease	500U/1000U
10X TEV Buffer	1mL

保存条件:

-20℃ 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。