His‐tag TEV Protease　烟草蚀纹病毒蛋白酶

UBE-038 (1000U)

（1）产品描述：

TEV Protease(TEV蛋白酶)是来源于烟草蚀纹病毒(TEV)的Nla蛋白酶经改进后的27kDa的蛋白酶，经过设计后与天然TEV蛋白酶相比其稳定性更好。此蛋白酶被用来切除纯化后融合蛋白的亲和标签。TEV蛋白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(Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln-↓Gly)，最普通的是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C端融合部分提供一个想要的N端氨基酸。在PH 7.0，30℃时可达到最佳活性，但在PH 5.5-8.5和4-30℃的广泛范围内TEV蛋白酶皆有活性，使得反应条件的选择可根据目的蛋白的情况而修改。切割后也很容易利用其C端的His-tag标签进行TEV蛋白酶清除。也可以从固定在树脂上的融合蛋白切除掉目的蛋白。

- **识别位点：**

—Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln↓—Gly—

- **影响天然TEV酶活性的常见因素：**

1）PMSF和AEBSF（1 mM），TLCK（1 mM），Bestatin（1 mg/ml）、Pestatin A（1 mM），EDTA（1 mM）以及E-64（3 mg/ml），以上这些蛋白酶抑制剂对TEV的活性没有影响；

2）Zn离子（＞5 mM）对TEV活性有抑制；

3）与半胱氨酸反应的试剂也是TEV的潜在抑制剂。

（2）产品信息：

- 来源：大肠杆菌 *(E.coli)*
- 标签：His-tag
- 规格：1000 Unit/Vial
- 酶活和浓度：见标签 （X U/μl, X μg/ml）（溶解于PBS，1 mM DTT中）
- 纯度：>95% (SDS-PAGE)

保存：收到产品后，短期使用完，请放到-20℃可保存6个月。若长期使用，放到-70℃，至少可保存12个月。强烈建议收到货或者第一次使用时将各组分分装保存.

（3）反应条件：

TEV protease蛋白酶与靶蛋白的比例是1:100（W/W），1mg的TEV protease能切割100mg的靶蛋白，不需要计算摩尔比率。TEV protease蛋白酶可以直接加入到靶蛋白中。不需要buffer置换和稀释TEV protease蛋白酶。TEV protease蛋白酶和靶蛋白的比例需要实验来判断，对于大多数靶蛋白来说TEVprotease蛋白酶与靶蛋白的比例一般介于1:100－1:200（W/W）之间都是有效的。

（4）典型实验：

1mg TEV protease蛋白酶能够切割大于90%的100mg的靶蛋白在4 °C 时反应16h，反应 Buffer为：50mM Tris-HCL (pH:8.0），1mM DTT, 0.5 mM EDTA（自备）