



TEV Protease (with His-tag)

货号: T6035

存储条件: -20℃, 建议在首次使用时分装保存, 避免反复冻融。

产品说明

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。

产品组分

货号	名称	规格	存储温度
T6035-1	TEV Protease (10 U/μl)	100 μl	-20℃
T6035-2	10× TEV Buffer	1 ml	-20℃

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 检测蛋白质混合物未降解。

使用说明

1. 在 EP 管中配制如下反应体系:

试剂	使用量
底物	20ug
10× TEV Buffer	5μl
TEV Protease (10 U/μl)	1 μl
ddH ₂ O	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: G2526), 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 MgSO₄、10 mM MnCl₂、10 mM CaCl₂ 和高达 100 mM 的 EDTA。

3. 该酶在有≥40%甘油、≥ 5 mM Zn²⁺、≥1 mM Cu²⁺和 ≥10 mM Co²⁺ 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。

