

TEV蛋白酶

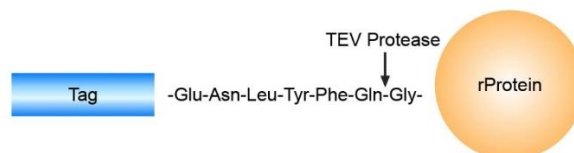
01 产品信息

产品	货号	规格
TEV 蛋白酶 (His-tag) (5 U/μL)	DTE05	1000 U
		2000 U

02 产品描述

TEV 蛋白酶是经过基因工程改造的重组蛋白酶，不仅保持天然 TEV 酶的功能活性，且在广谱的温度范围内表现出更强的稳定性和特异性。rTEV 是一种用来切除融合蛋白上亲和标签的常用工具酶，具有很强的位点特异性，严格识别七肽序列 EXXYXQ ↓ (G/S)，切割位点在谷氨酰胺和甘氨酸/丝氨酸之间。普遍应用的七肽序列为：Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln↓-Gly。rTEV 在 pH 7.0, 30°C 时可达到最佳活性，且在 pH 6.0-8.5 和温度 4-30°C 的广泛范围内皆有活性，使得反应条件的选择可根据目的蛋白的情况而灵活变动。

可把 GST 或 His 等标签设计在融合蛋白的 N 端，并在标签与目的蛋白之间设计加入上述七肽序列，在 GST 或 His 标签被酶切后，在目的蛋白的 N 端仅有一个额外的 Gly/Ser 氨基酸残基，从而最大限度地减少了对目的蛋白结构和功能的影响。若将 GST 或 His 等标签设计在融合蛋白的 C 端，则目的蛋白的 C 端将残留 6 个额外的氨基酸残基。



03 产品应用

融合蛋白标签剪切去除。

04 活性定义

在 1×TEV Protease Buffer (50 mM Tris, pH 8.0, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT) 中, 30°C 反应 1 h, 剪切 >85% 的 3 μg 底物所需要的酶量定义为一个活性单位。

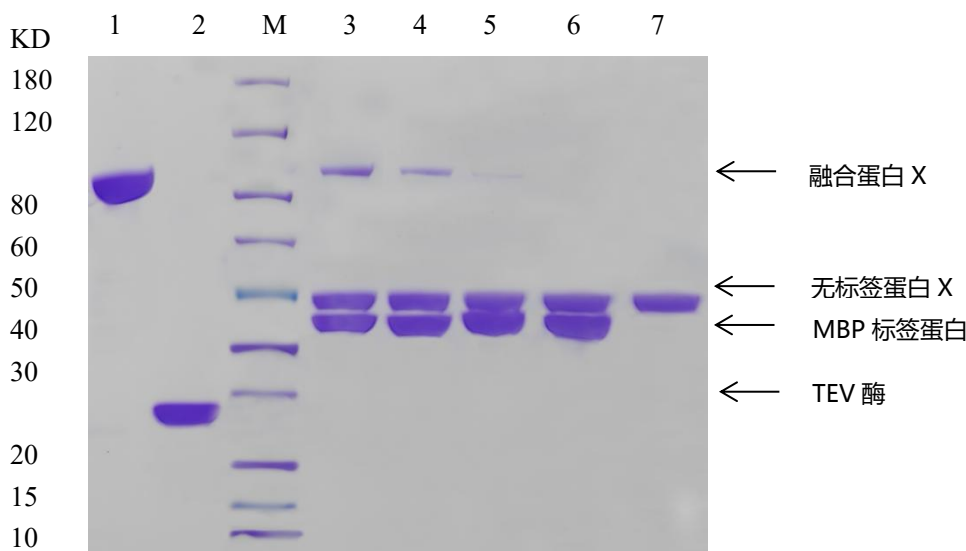
05 运输与保存方法

-80°C 条件下可保存 2 年; -20°C 条件下可保存 6 个月; 避免反复冻融。

06 使用说明

1. 酶切条件：推荐 4°C 酶切过夜，用户可以根据自己的目的蛋白进行摸索最佳酶切条件。
2. 酶切条件的优化：由于不同目的蛋白具有不同的特性，所以在实际使用时，建议对酶和目的蛋白的比例进行适当优化。
 - a. 将反应混合物放置于 30°C 反应 1 小时。如果目的蛋白在 30°C 不稳定，可以考虑 4°C 反应过夜（16 小时左右）。
 - b. 取 20 μ L 样品进行 SDS-PAGE 电泳分析，确定反应所需的合适酶量和合适的反应时间。

TEV 酶切及镍柱回收参考图



注意事项:

1. TEV 蛋白酶的最佳酶切温度是 30°C，在实际操作过程中，为尽量保留目的蛋白的结构和生物活性，可以在 4°C 用 TEV 蛋白酶酶切过夜。TEV 蛋白酶在 pH 6.0-9.0 范围内具有活性，而当 pH 小于或等于 5 时，会失去酶活性。
2. TEV 蛋白酶还有一个突出的优点是在 400 mM 咪唑中仍有较高活力，因此对于很多用镍柱纯化的 His 标签目的蛋白，可直接将 TEV 蛋白酶加入含高浓度咪唑的刚刚纯化的目的蛋白溶液中，在 4°C 边透析去除咪唑边进行酶切。当然也可以在透析后再用 TEV 蛋白酶进行酶切以去除 His 标签。经过酶切的目的蛋白，溶液中带有 His 标签的 TEV 蛋白酶以及切除下来的 His 标签，都可以通过与镍柱结合而去除。
3. TEV 蛋白酶的酶活性不会被常见的丝氨酸蛋白酶抑制剂（serine proteinase inhibitor），如 PMSF、AEBSF、Bestatin、Pepstatin、E-64、TLCK 和 EDTA 所抑制。但靶向半胱氨酸（Cysteine）残基的蛋白酶抑制剂如 NEM 或 IAA 等，可以显著抑制 TEV 蛋白酶的酶活力，因为天然的 TEV 蛋白酶含有其维持酶活力所必需的 Cys151。

感谢您选择德泰生物，我们竭诚为您服务！

For Research Use Only