

## TEV Protease (His-tag)

产品编号	产品名称	包装
P2307	TEV Protease (His-tag)	1000U

### 产品简介:

- TEV Protease (His-tag)是一种在大肠杆菌中重组表达的带His标签(6X His tag)的烟草蚀纹病毒(Tobacco Etch Virus, TEV)的半胱氨酸蛋白酶,能特异性地识别七肽序列Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln-Gly/Ser,并在Gln和Gly/Ser氨基酸残基之间进行酶切,常用于去除融合蛋白的Glutathione S-transferase (GST)、His或者其它标签的蛋白酶。
- 建议把GST或His等标签设计在融合蛋白的N端,并在GST或His等标签与目的蛋白之间设计加入TEV Protease专一性识别与酶切的上述七肽序列。这样在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。构建含有TEV Protease专一性识别位点的目的蛋白表达质粒,可以考虑选购碧云天的质粒pET-N-His-TEV (D2905)。
- TEV Protease的最佳酶切温度是30°C,在29-34°C范围内均具有较高的酶活性,但当温度达到或高于37°C时,其酶活性会急剧下降。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,建议在4°C用TEV Protease酶切过夜。TEV Protease在pH6.0-9.0范围内具有活性,而当pH小于或等于5时,会失去酶活性。
- TEV Protease还有一个突出的优点是在400mM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 Protease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 Protease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标签的本TEV Protease以及切除下来的His标签,都可以通过与镍柱结合而去除。His标签蛋白的纯化可以考虑选购碧云天的BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐还原螯合型) (P2210/P2218/P2220)或His标签蛋白纯化试剂盒(耐还原螯合型) (P2226)以及碧云天的BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型) (P2233)或His标签蛋白纯化试剂盒(耐变性剂型) (P2229S)。
- TEV Protease的酶活性不会被常见的丝氨酸蛋白酶抑制剂(serine protease 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 Protease的酶活力,因为天然的TEV Protease含有其维持酶活力所必需的Cys151。
- 碧云天TEV Protease (His-tag)比较适用于酶切带His标签的蛋白,因为酶切后没有完全酶切的His标签重组蛋白、切除下来的His标签以及TEV Protease (His-tag)都可以结合于镍柱而被除去,穿柱液中则含有所需的靶蛋白。
- 酶活性单位定义: 30°C, pH8.0条件下反应1小时,能够切割3μg对照底物达85%以上所需的酶量为一个活性单位。
- 碧云天TEV Protease (His-tag)酶活性鉴定结果可参考图1。

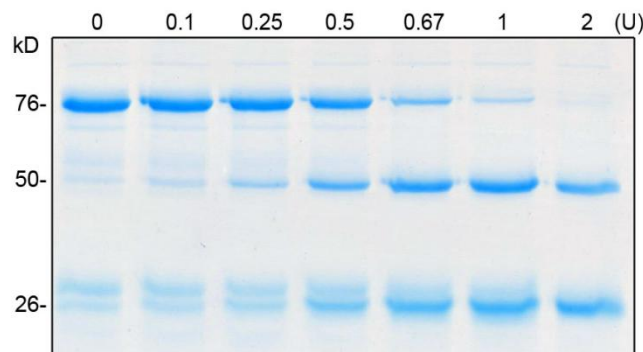


图1. TEV Protease (His-tag)切割GST标签蛋白的效果图。含有TEV Protease识别位点的76kD GST标签蛋白与TEV Protease进行反应,底物的用量为3μg,酶的用量依次为0、0.1、0.25、0.5、0.67、1、2U,30°C在1X TEV Buffer中反应1小时后取样进行SDS-PAGE电泳和考马斯亮蓝染色。酶切产物大小为约50kD的目的蛋白和约26kD的GST标签。

- TEV Protease分子量大小约28kDa,纯度: ≥95%。
- TEV Protease储存液组成为: 25mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 1mM EDTA, 5mM DTT, 50%(v/v)甘油, pH8.0。
- 10X TEV Buffer组成为: 500mM Tris-HCl, 500mM NaCl, 5mM EDTA, 10mM DTT, pH8.0。
- 本产品一个包装含有1000单位的酶,可用于约3mg带有TEV Protease识别位点的融合蛋白的切割。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P2307-1	TEV Protease (His-tag) (1U/ $\mu$ l)	1ml
P2307-2	10X TEV Buffer	2ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

-20°C保存。

#### 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。

#### 使用说明：

1. 由于不同标签蛋白具有不同的特性，所以在实际使用时，建议对酶和标签蛋白的比例进行适当优化，以下是一个简单的估计酶用量的实验方案。

a. 按照下表设置酶切反应体系：

组分	体积( $\mu$ l)
H <sub>2</sub> O	X
10X TEV Buffer	5
标签蛋白(8 $\mu$ g)	Y
TEV Protease (His-tag) (1U/ $\mu$ l)	0、1.5或2.5
总体积	50

注：如果标签蛋白浓度为2 $\mu$ g/ $\mu$ l，那么Y=8/2=4，即须使用4 $\mu$ l 2 $\mu$ g/ $\mu$ l的标签蛋白。

- b. 将反应混合物放置于30°C反应1、2、4或6小时。如果目的蛋白在30°C很不稳定，可以考虑4°C反应过夜(16小时左右)。正常情况下按照上述反应体系，无论30°C反应1小时还是4°C反应16小时实际测定发现都可以充分剪切并去除标签的。
- c. 取20 $\mu$ 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。

#### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2210	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐还原螯合型)	10ml
P2218	BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐还原螯合型)	100ml
P2220	BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐还原螯合型)	1000ml
P2226	His标签蛋白纯化试剂盒(耐还原螯合型)	10ml
P2229S	His标签蛋白纯化试剂盒(耐变性剂型)	10ml
P2251	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	10ml
P2253	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	100ml
P2255	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	1000ml
P2262	GST标签蛋白纯化试剂盒	10ml
P2233-10ml	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型)	10ml
P2233-100ml	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型)	100ml
P2233-1000ml	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型)	1000ml
P2302	PreScission Protease	100U
P2303	PreScission Protease	500U
P2307	TEV Protease (His-tag)	1000U
P2308	TEV Protease (His-tag)	10000U
P2310S	TEV Protease (GST/His-tag)	1000U
P2310M	TEV Protease (GST/His-tag)	10000U
D2905	pET-N-His-TEV	1 $\mu$ g

#### 使用本产品的文献：

- Zidong Jia, Feilong Meng, Hui Chen, Gao Zhu, Xincheng Li, Yunfan He, Liyao Zhang, Xiao He, Huisen Zhan, Mengquan Chen, Yanchun Ji, Meng Wang, Min-Xin Guan. Human TRUB1 is a highly conserved pseudouridine synthase responsible for the formation of  $\Psi$ 55 in mitochondrial tRNAAsn, tRNA<sup>Gln</sup>, tRNA<sup>Glu</sup> and tRNA<sup>Pro</sup>. Nucleic Acids Res. 2022 Sep 9;50(16):9368-9381.
- Haipo Xu, Xiaolong Zhang, Zhixiong Cai, Xiuqing Dong, Geng Chen, Zhenli Li, Liman Qiu, Lei He, Bin Liang, Xiaolong Liu, Jingfeng Liu. An Isothermal Method for Sensitive Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex Using Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/Cas12a Cis and Trans Cleavage. J Mol Diagn. 2020 Aug;22(8):1020-1029.

3. Ma Y, Li L, Tian H, Lu M, Megharaj M, He W. Transcriptional analysis of the laccase-like gene from *Burkholderia cepacia* BNS and expression in *Escherichia coli*. *APPL MICROBIOL BIOT*. 2019 Jan;103(2):747-760.
4. Ni W, Liu H, Wang P, Wang L, Sun X, Wang H, Zhao G, Zheng Z. Evaluation of multiple fused partners on enhancing soluble level of prenyltransferase NovQ in *Escherichia coli*. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2019 Mar;42(3):465-474.
5. Yubo Song, Mingkai Xu, Yongqiang Li, Yansheng Li, Wu Gu, Gulinare Halimu, Xuanhe Fu, Huiwen Zhang, Chenggang Zhang. An iRGD peptide fused superantigen mutant induced tumor-targeting and T lymphocyte infiltrating in cancer immunotherapy. *Int J Pharm*. 2020 Aug 30;586:119498.
6. Shanshan Wang, Rui Lin, Yanyan Ren, Tao Zhang, Hongzhao Lu, Ling Wang, Daidi Fan. Non-chromatographic purification of thermostable endoglucanase from *Thermotoga maritima* by fusion with a hydrophobic elastin-like polypeptide. *Protein Expr Purif*. 2020 Sep;173:105634.
7. Ruinan Yang, Dongzhen Li, Shancheng Yi, Manqun Wang. Evolutionarily conserved odorant-binding proteins participate in establishing tritrophic interactions. *iScience*. 2022 Jun 23;25(7):104664.
8. Wen Zhu, Yang Wang, Liangyin Lv, Hui Wang, Wenqiang Shi, Zexin Liu, Wei Yang, Jianwei Zhu, Huili Lu. SHTXTHHly, an extracellular secretion platform for the preparation of bioactive peptides and proteins in *Escherichia coli*. *Microb Cell Fact*. 2022 Jun 27;21(1):128.

Version 2023.12.07