

Название продукта TEV-протеаза

Описание

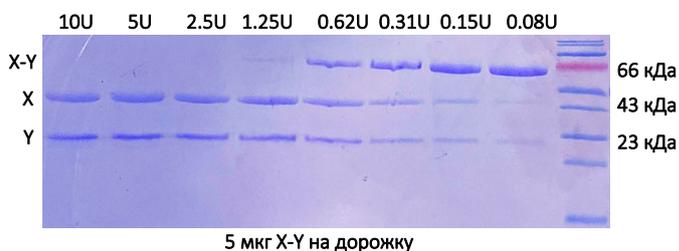
Фермент TEV-протеаза представляет собой цистеиновую протеазу вируса гравировки табака (Tobacco Etch Virus, TEV), которая широко используется для гидролиза химерных белков и удаления меток. Данный фермент относится к химотрипсин-подобным протеазам и обладает высокой специфичностью к распознаваемой последовательности. Оптимальным сайтом распознавания для TEV-протеазы является последовательность Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln-(Gly/Ser), однако место седьмого аминокислотного остатка также могут занимать Ala, Met, Cys или His¹. Гидролиз происходит между Gln и Gly/Ser [ENLYFQ↓(G/S)]. Представленный продукт является рекомбинантной версией TEV-протеазы с увеличенной стабильностью и имеет молекулярную массу 28 кДа, содержит полигистидиновую метку (8xHis-tag) на N-конце. Наличие 8xHis-tag позволяет эффективно удалить протеазу из реакционной смеси с использованием металл-хелатной аффинной хроматографии (Ni²⁺) после проведения гидролиза.

Источник

Фермент выделен из штамма E.coli, несущего рекомбинантную плазмиду, содержащую рекомбинантный ген TEV протеазы.

Определение единицы активности

Одна единица TEV-протеазы расщепляет 2 мкг химерного рекомбинантного белка (X-Y, 66 кДа) до степени гидролиза 99% за 1 ч при температуре 30°C в 50 мкл стандартного реакционного буфера 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.5 mM EDTA и 1 mM DTT.



Варианты поставок

Артикул	Название	Фасовка и объем фермента	Активность	10X буфер реакции
TEV-01	TEV протеаза	1 000 ед.а/ 40 мкл	25 000 ед.а. /мл	1 мл
TEV-02	TEV протеаза	10 000 ед.а / 400 мкл	25 000 ед.а. /мл	10 мл
TEV-02	TEV протеаза	50 000 ед.а/ 2 000 мкл	25 000 ед.а. /мл	50 мл

Фермент поставляется с 10X стандартным реакционным буфером следующего состава: 0.5 M Tris-HCl (pH 7.5), 5 mM EDTA и 10 mM DTT.

Условия реакции

Состав оптимального реакционного буфера: 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.5 mM EDTA и 1 mM DTT. Фермент также активен в калий-фосфатном, натрий-ацетатном и HEPES буферах при значениях pH от 6 до 9. Оптимальная температура реакции 30°C, однако возможно проведение реакции при более низкой температуре – до 4°C в течение 16-24 ч. Рекомендуется оптимизировать условия гидролиза для конкретного субстрата, варьируя количество TEV-протеазы, время реакции и температуру инкубации.

Инактивация

Инкубация при 65°C в течение 10-15 минут.

Ингибиторы

≥ 5 mM Zn²⁺, ≥ 1 mM Cu²⁺, ≥ 10 mM Co²⁺, > 0.2 M NaCl, 2 M мочевины, > 0.5 M гуанидин гидрохлорида, > 50 mM имидазола, > 40 % глицерина, pH < 6 и > 9, ингибиторы цистеиновых протеаз.

Условия хранения

Хранить при температуре -20°C. Буфер хранения – 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 300 mM NaCl, 1 mM EDTA, 5 mM DTT, 50% глицерин. Срок годности при соблюдении условий хранения и транспортировки – 12 месяцев.

1. Kapust RB, Tózsér J, Copeland TD, Waugh DS. The P1' specificity of tobacco etch virus protease // Biochem Biophys Res Commun. – 2002. – V. 294. – No. 5. – P. 949-955.