

SUMO Protease

产品信息:

组成	保存	BN24267	BN24267
SUMO Protease(10 U/μl)	-20°C	1000U	1000U×5
10× SUMO Buffer +Salt	-20°C	1 ml	1 ml×5
10× SUMO Buffer -Salt	-20°C	1 ml	1 ml×5

储存温度:

SUMO Protease(10 U/μl)长期储存于-80°C, 可保存 2 年; 或少量分装后保存于-20°C, 可保存 6 个月, 避免反复冻融。10×SUMO Buffer +/-Salt 置于-20°C 保存即可。

产品介绍:

SUMO Protease 也称 Ulp, 是一种具有较高活性的半胱氨酸蛋白酶, 它能识别 SUMO 蛋白的三级结构, 而不是氨基酸序列, 因此可以高效而且特异性地将 SUMO 蛋白从重组融合蛋白上切割下来。切割的最佳温度为 30°C, 该酶作用温度 (4-30°C) 和 PH 范围 (pH7-9) 都比较广泛。SUMO Protease 是自大肠杆菌表达经亲和纯化的重组蛋白酶。SUMO Protease 带有多聚组氨酸标签, 便于融合蛋白切割后利用亲和层析去除该蛋白酶。

酶活性单位定义:

在 1× SUMO Buffer -Salt(50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.2% NP-40, 1 mM DTT)中, 30°C 反应 1 h, 剪切>85%的 2 μg 对照底物所需要的酶量定义为一个活性单位。

应用: 融合蛋白标签剪切去除。

操作方法:

若蛋白为热不稳定性, 请在 4°C 孵育较长时间或增加酶的用量。

1. 在 EP 管中配置如下反应体系:

融合蛋白	20 μg
SUMO Protease(10 U/μl)	1-5 μl
10× SUMO Buffer +/-Salt	20 μl
ddH ₂ O	Up to 200 μl

2. 混匀上述体系后于 30°C 孵育, 在 1、2、4、6 小时分别吸出 30 μl 上述反应液, 置于单独的 EP 管中。

3. 向上述 EP 管中加入 20 μl 2×SDS Loading Buffer, 置于-20°C。

4. 取 30 μl 样品进行 SDA-PAGE 分析。

注意事项:

1. 10× SUMO Buffer +Salt(500 mM Tris-HCl, pH 8.0, 2% Igepal (NP-40), 1.5 M NaCl, 10 mM DTT); 10× SUMO Buffer -Salt(500 mM Tris-HCl, pH 8.0, 2% Igepal (NP-40), 10 mM DTT)请根据实验选择合适的缓冲液。

2. 为达到最好的酶切效果, 请保证重组蛋白为部分或完全纯化的蛋白。对于大部分融合蛋白, SUMO 蛋白酶所需 NaCl 的浓度不同的蛋白情况会有所差别, 可根据实际情况在 0~300 mM 之间调节 NaCl 的浓度以达到最佳的效果。