

SUMO Protease

REF: EG26312S

储存条件

-85°C ~ -65°C 保存 2 年。建议分装保存，避免反复冻融。

产品组成

组分	规格
SUMO Protease (1 U/μl)	200 μl
10× SUMO Buffer	2×1.5 ml

产品简介

SUMO Protease 是来自酿酒酵母的 ULP1 (Ubl 特异性蛋白酶 1) 经大肠杆菌重组表达后所得的重组蛋白。SUMO 蛋白酶特异性识别 SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) 的三维结构而不是线性氨基酸序列，并在 SUMO 羧基端 (C 端) x-Gly-Gly-x 肽段中 Gly-Gly 后的肽键位点切割。基于该特性，SUMO 蛋白酶与 TEV、凝血酶等蛋白酶相比有两大优势：无痕切割：切完后目的蛋白 N 端不带多余氨基酸，直接得到天然 N 端，这是相比 TEV、凝血酶的最大优势；特异性强：识别序列长，因此特异性很高。SUMO 蛋白酶在较宽的温度范围 (4~30°C)、离子强度范围 (0~300 mM NaCl)、咪唑浓度范围 (0~150 mM)、还原剂浓度范围 (0~8 mM DTT/TCEP) 和 pH 范围 (6.0~9.5) 内均具有活性。此外，本产品带有多聚 His 标签，便于使用亲和层析的方法，去除 SUMO 蛋白酶，纯化目的蛋白。

活性定义

1 活性单位 (U) 定义为在 1× SUMO Buffer 中，30°C 反应 1 h，酶切 >85% 的 2 μg 底物所需要的酶量。

储存缓冲液

25 mM Tris-HCl; 250 mM NaCl; 0.5 mM DTT; 0.1% NP-40; 50% Glycerol; pH 8.0 @ 25°C。

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°C 下，在 30 μl 反应体系中 1 U SUMO Protease 与 3 μg 标准蛋白共同温育 4 h，经 SDS-PAGE 检测，蛋白质混合物没有降解。

使用方法

1. 在 EP 管中配制如下反应体系：

试剂	使用量
融合蛋白	≤600 pmol ^a
10× SUMO Buffer	10 μl
SUMO Protease (1 U/μl)	1 μl
ddH ₂ O	Up to 100 μl

- 以 50 kD 蛋白为例，600 pmol 融合蛋白对应的质量为 30 μg。
- 30°C 孵育 1 h 或 4°C 过夜 (16 h 左右)；反应温度不变的情况下，适当延长反应时间可提高酶切效率；
- 向上述 EP 管中加入 33 μl Protein Loading Buffer (SDS, 4×) (REF: EG21323S)，样品煮沸 5 min，取 10 μl 进行 SDS-PAGE 分析；
- 根据酶切结果，优化 SUMO 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

- 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。
- 反应体系中的咪唑浓度不应超过 150 mM，否则 SUMO 蛋白酶的活性会受到抑制。
- 反应体系中 NaCl 浓度 100 mM 时 SUMO 蛋白酶活性最佳，但可根据实际情况在 0~300 mM 范围内进行调整以达到最佳酶切效果。
- SUMO 蛋白酶在含有终浓度 0~8 mM 的 DTT/TCEP 的反应体系中活性不受影响。
- SUMO 蛋白酶最适反应温度为 30°C，但在 4~30°C 范围内均有活性，低温需延长反应时间。可根据目的蛋白需求灵活调整反应温度。
- 条件允许的情况下，缩小反应体积可提高酶切效率，但应注意第 2、3 条提到的 NaCl、咪唑范围。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。