

ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ

TEV-протеаза (TEVp)

Кат. № E-9005



Описание фермента

Настоящий продукт является рекомбинантной версией каталитического домена белка ядерного включения вируса гравировки табака (Tobacco Etch Virus). Фермент содержит на N-конце гистидиновую метку и имеет молекулярную массу 28,5 кДа. TEV-протеаза расщепляет белки по специфическому сайту из семи аминокислотных остатков следующего состава: Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Glu-X (E-N-L-Y-F-Q-X). При этом седьмым аминокислотным остатком может быть один из шести: серин (S), глицин (G), аланин (A), метионин (M), цистеин (C) или гистидин (H) [1]. Расщепление происходит между Глутаминовым и X аминокислотными остатками (Gln-X).

TEV-протеаза инактивируется прогреванием при 65°C в течение 10-15 минут. Так же, фермент ингибируется присутствием в реакционной смеси 40% глицерина, 5 mM Zn^{2+} , 1 mM Cu^{2+} и 10 mM Co^{2+} , 200 mM NaCl, 2 M мочевины, 500 mM гуанидин гидрохлорида, 50 mM имидазола.

TEV-протеаза сохраняет активность:

- в присутствии 10 mM $MgSO_4$, $MnCl_2$ и $CaCl_2$, 100 mM ЭДТА;
- в присутствии ингибиторов протеаз, таких как апротинин, бензамидин, пепстатин, фенилметилсульфонил фторид;
- при pH 6,0 – 9,0;
- температуре от 4°C до 37°C.

Область применения

TEV-протеаза может применяться для расщепления слитых рекомбинантных полипептидов, имеющих сайт узнавания протеазы между лидерным фрагментом и целевым белком. Наличие гистидиновой метки у TEV-протеазы позволяет очищать целевой белок от фермента с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии.

Источник

TEV-протеаза выделена из штамма *E.coli*, содержащего плазмиду с клонированным фрагментом гена каталитического домена белка ядерного включения вируса гравировки табака (Tobacco Etch Virus).

Единицы активности

Одна единица активности соответствует количеству фермента, необходимому для расщепления 2 мкг химерного рекомбинантного белка (~145 кДа, MBP-Bst) до глубины гидролиза 90% в общем реакционном объеме 10 мкл за 1 час при 30°C в стандартном реакционном буфере. Состав стандартного реакционного буфера: 50 mM Tris-HCl (pH 7,5 при 25°C), 0,5 mM EDTA и 1 mM DTT (1мл 10х буфера поставляется вместе с ферментом).

Концентрация фермента: 5 000 ед.а./мл.

Кат.№	Название	Количество	Объем
E-9005	TEV-протеаза	5000 ед.активности	1000 мкл

Буфер хранения

Фермент находится в растворе следующего состава: 50 мМ Трис-HCl (pH 7,5 при 25°C), 250 мМ NaCl, 1 мМ EDTA, 1 мМ ТСЕР, 50% глицерин.

Контроль качества

Каждая партия фермента тестируется на активность фермента, электрофоретическую чистоту в SDS-ПААГ, отсутствие неспецифической протеолитической активности.

Условия для проведения реакции

Реакционный буфер: 50 мМ Tris-HCl (pH 7,5 при 25°C), 0,5 мМ EDTA и 1 мМ DTT (1мл 10х буфера поставляется вместе с ферментом). Оптимальная температура реакции 30°C. Время реакции и соотношение субстрата и фермента подбирается эмпирически, и могут существенно варьировать в зависимости от природы субстрата. Допускается проведение реакций при 4°C в течение длительного времени (16-24 часа).

Условия хранения и транспортировки

Хранить при температуре –20°C.

Допускается транспортирование при температуре не выше +8°C в течение двух суток.

Ссылки

1. Kapust R. B. et al. The P1' specificity of tobacco etch virus protease // Biochemical and biophysical research communications. – 2002. – Т. 294. – №. 5. – С. 949-955.
[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00574-0](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00574-0)

ООО «Биосан»
630090 г. Новосибирск,
Ул., Инженерная, 28
Тел.: +7 (383) 363-22-40
<https://biosan-nsk.ru/>
svt@biolabmix.ru