

SUMO Protease

介绍:

SUMO 蛋白酶, 也叫 Ulp, 是一种源于酿酒酵母 Ulp1 (Ubl-specific protease 1) 重组基因片段的高活性半胱氨酸蛋白酶。SUMO 蛋白酶可以高度特异性的方式识别和切割泛素样 (UBL) 蛋白 SUMO 羧基端(C 端) Gly-Gly 后的肽键。SUMO 是一种泛素样蛋白(Ubiquitin-like Protein), 常见于蛋白翻译后修饰(post-translation modification, PTM), 对于蛋白的稳定性、生物学功能的调节有重要作用。

SUMO 蛋白酶的最佳解裂温度为 30 °C, 最优 pH 为 8.0, 但其在较宽的 pH 范围(6.0-10.0)、温度范围(2~30°C)、离子强度范围(0-400mM NaCl)内均保持有较高的酶活性。在特殊场景使用中, 可在4°C温度下对样品进行酶切过夜来保持目的蛋白的结构和生物活性。

SUMO Protease 在还原剂 DTT(0.5~2mM)存在下的酶切活性更高, 酶切体系中加入适当浓度 DTT 可以显着提高酶切效率, 尤其是在长时间的酶切过程中, 例如 4°C 酶切过夜。裂解后的 SUMO 蛋白酶可利用其 N 末端的组氨酸标签进行亲和层析去除。

原料/组成

组分	详细组成	规格		
		200U	1000U	5000U
SUMO Protease (10U/μl)	25 mM Tris-HCl, pH 8.0 0.1% Igepal (NP-40) 250 mM NaCl 500 μM DTT 50% (v/v) glycerol	20 μl	100 μl	500 μl
10X SUMO Protease Buffer + Salt	500 mM Tris acetate, pH 8.0 2% Igepal (NP-40) 1.5 M NaCl 10 mM DTT	400 μl	2 × 1 ml	10 × 1 ml
10X SUMO Protease Buffer - Salt	500 mM Tris acetate, pH 8.0 2% Igepal (NP-40) 10 mM DTT	400 μl	2 × 1 ml	10 × 1 ml

保存条件

长期保存: -80 °C

实验操作

由于不同目的蛋白具有不同的特性，所以在实际使用时，建议对酶和目的蛋白的比例进行适当优化，以下是一个简单的针对大部分类型的重组融合蛋白进行酶反应的实验方案。

- 1.5ml 离心管中配置如下反应体系（以 200 μ l 体系为例，无盐和有盐的缓冲液可任选一种或两种同时做平行实验）。

Component	Size
SUMO-tag Protein	20 μ g
SUMO Protease (10U/ μ l)	1 μ l
10X Reaction Buffer +/- Salt	20 μ l
H ₂ O	To 200 μ l
Total	200 μ l

- 30 $^{\circ}$ C 下混合孵育 1h、2h、4h 和 6h。若高温下蛋白不稳定，可 4 $^{\circ}$ C 酶切反应过夜(16h 左右)。也可按照如下表格优化反应条件：

Temperature	Reaction Time
4 $^{\circ}$ C	15-16h
16 $^{\circ}$ C	4h
25 $^{\circ}$ C	1.5h
30 $^{\circ}$ C	1h

- 取上述不同时间点的酶切产物 20 μ l 进行 SDS-PAGE 电泳分析来确定反应所需的最适酶反应条件。
- 按照实验获得的最佳酶浓度和反应时间进行放大酶切反应。
- 亲和层析去除带有 His 标签的 SUMO 和 SUMO 蛋白酶。

注意事项

- 为获得最好的酶切效果，重组蛋白须为纯化后的蛋白。
- 对于大部分融合蛋白，SUMO Protease 反应体系中 NaCl 的浓度为 150mM。但可根据实际情况可在 0~300mM 之间调节 NaCl 的浓度以达到最佳的酶切效果。
- 酶切反应中咪唑的终浓度不应高于 150mM，否则可能会影响 SUMO Protease 的酶切效率。
- 本产品仅限科研用途使用。