

# SUMO蛋白酶

## 01 产品信息

产品	货号	规格
SUMO 蛋白酶 (His-tag) (5U/ $\mu$ L)	DTE01	1000 U
		2000 U

## 02 产品描述

SUMO 蛋白酶, 也称为 Ulp1 蛋白酶 (分子量 26kD), 是一种具有较高活性的半胱氨酸蛋白酶。SUMO 蛋白酶以高度特异性的方式识别 SUMO 三级结构, 而非氨基酸序列, 故 SUMO 蛋白酶可以切割重组融合蛋白中的 SUMO。SUMO 融合体系具有促进可溶性表达、促进蛋白质正确折叠、保护蛋白质免受蛋白酶水解的作用, 且 SUMO 蛋白酶的特异性识别切割, 可以完全去除 SUMO 标签, 最大限度地减少了对目的蛋白结构和功能的影响。SUMO 蛋白酶作用温度 (4~30°C) 和 PH (5.5-9.5) 范围广泛, 可较宽范围的反应环境体系中能保持较高的活性。本品为 *E.coli* 表达经亲和纯化的重组蛋白酶, 带有多聚 His 标签, 便于融合蛋白切割后利用亲和层析去除蛋白酶。

## 03 产品应用

融合蛋白 SUMO 标签剪切去除。

## 04 活性定义

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

## 05 运输与保存方法

-80°C 条件下可保存 2 年; -20°C 条件下可保存 6 个月; 避免反复冻融。

## 06 使用说明

- SUMO 蛋白酶与需要酶切的目的蛋白比例 (v : w) 为 1 : 10。
- 酶切条件: 推荐 4°C 酶切过夜, 使用者可以根据自己研究的目的蛋白进行摸索。
- 酶切条件的优化: 由于不同目的蛋白具有不同的特性, 所以在实际使用时, 建议对酶和待酶切的目的蛋白的比例进行适当优化。以下是一个简单的估计酶用量的实验方案。
  - 将反应混合物放置于 30°C 反应 1 h。如果目的蛋白在 30°C 不稳定, 可以考虑 4°C 反应过夜 (16h 左右)。
  - 带有 SUMO 标签的目的蛋白酶切反应的温度与时间, 可以视情况进行适当调整, 具体参考如下表格。

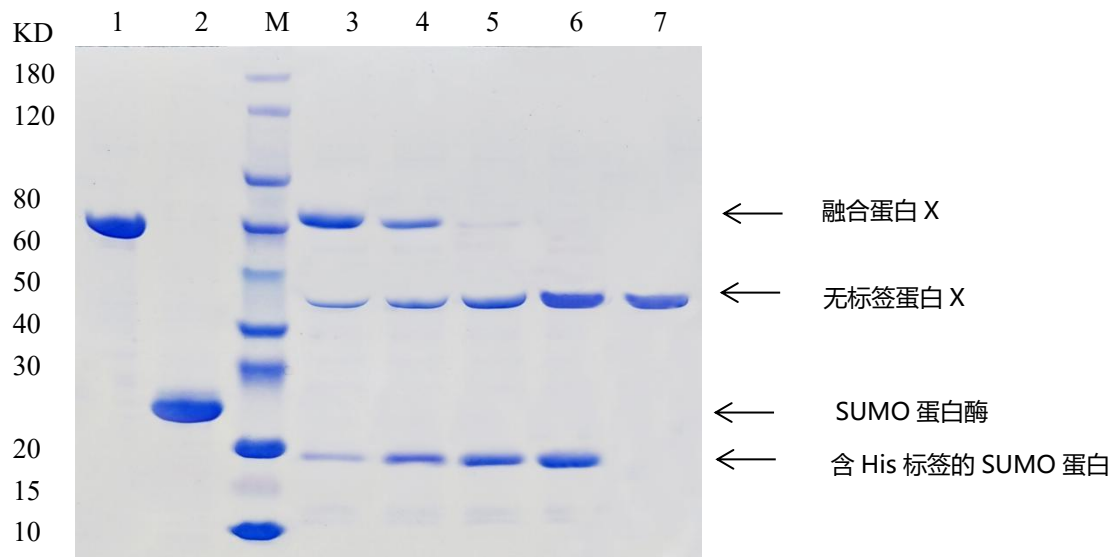
反应温度	反应时间
4°C	16 h
16°C	4 h
25°C	1.5 h
30°C	1 h

c. 取 20  $\mu$ L 样品进行 SDS-PAGE 电泳分析，确定反应所需的合适酶量。在实际操作过程中，如果有必要，还可以在上述反应的不同时间点取少量样品，后续通过电泳分析来确定优化的反应时间。

4. 酶切与纯化。后续可以按照上述优化的反应条件，放大反应体系进行目的蛋白 SUMO 标签的切除反应。反应结束后，可以通过镍柱结合去除切除下来的带有 His 标签的 SUMO 标签，以及带有 His 标签的本品，从而获得高纯度的无标签目的蛋白。

### SUMO 酶切及镍柱回收参考图

30°C 酶切反应 1h，取样进行 SDS-PAGE 电泳



Lane1: 纯化的 SUMO 融合蛋白 X 2 $\mu$ g

Lane2: 纯化的 SUMO 蛋白酶 2 $\mu$ g

Lane3-6: SUMO 蛋白酶的用量从左至右依次为 0.25U、0.5U、1U、2U

Lane7: Lane6 酶切条件放大，酶切后样品与 Ni-NTA Resin 结合后的流穿

**注意事项:**

1. 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。
2. 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。
3. 反应体系中咪唑的浓度应低于 150 mM，否则 SUMO 蛋白酶的活性会受到抑制。

感谢您选择德泰生物，我们竭诚为您服务！

For Research Use Only