

描述: rTEV 蛋白酶（重组型）是经过基因工程改造后的重组蛋白酶，该酶特异性识别 Glu-Asn- Leu-Tyr -Phe-Gln-Gly 七氨基酸序列，并高特异性、高活性剪切(剪切位点在 Gln-Gly 之间)。该酶经 6×His 标签纯化而得(含组氨酸标签)，纯度达 99%，剪切反应完毕后可通过 Ni-NTA Resin(Cat.No.: C0401, HaiGene)去除。该酶在 4℃-30℃ 温度、pH 范围 (6.0-8.5) 反应条件下均具有活性（见下表）。

不同温度下剪切活性(%)				
0.5h	4℃	16℃	21℃	30℃
1 h	34	58	56	70
2 h	58	80	78	90
3 h	71	99	99	99
0.5h	84	99	99	99

组分

名称	数量
rTEV Protease (10 U/μl)	100 μl
20×rTEV Buffer	1 ml
0.1M DTT	100 μl

活性定义: 在 1×rTEV Buffer (50 mM, pH8.0, 0.5 mM EDTA, 1mM DTT), 30℃ 反应 1h, 剪切>85% 的 3 μg 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。

储存: 长期储存-70℃，可储存 2 年，-20℃可储存 6 个月。

操作方法

1. 在 EP 管中配制如下反应体系

融合蛋白	20 μg
20×rTEV Buffer	7.5 μl
0.1M DTT	1.5 μl
rTEV Protease	1-3 μl
ddH ₂ O	Up to 150 μl

2. 30℃ 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 30 μl 2×SDS Loading Buffer，置于 -20℃。

4. 样品全部反应完毕后，样品煮沸 5 min，取 40 μl 进行 SDS-PAGE 分析。

5. 如融合蛋白要求低温处理，可将反应液置于 4℃，请延长反应时间，并增加 rTEV 酶用量。