

产品说明

本制品是重组表达的人源鼻病毒 Rhinovirus 14 编码的 3C Protease。本酶是高纯度的 N 端 6×His-GST 标签蛋白质，通过镍柱或 GST 树脂结合方法极易从蛋白酶反应液中去除。本酶具有与天然蛋白质相同的活性，能够特异性切割氨基酸序列 LeuGluValLeuPheGln↓GlyPro，可有效切断含 Precision 3C Protease 识别序列的融合蛋白质的标签序列。本酶在 4℃仍具有活性，可在低温下操作，有利于目的蛋白质的活性和稳定性。

本公司 Precision 3C protease 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 活性单位指在 4℃下，1× Precision 3C protease 反应缓冲体系下，16 h 内切割大于 95%的 100ug Sumo-3C-SSB 融合蛋白底物所需的酶量。

活性测定条件

500 mM Tris-HCl (pH7.5, 25℃), 1.5 M NaCl

浓度: 2U/μl

保存条件: -20℃可保存 2 年，避免反复冻融

特点与适用范围

- 识别切断蛋白中的 LEVLFQ↓GP 序列，去除标签序列等
- 低温下活性高，有利于保持目标蛋白的稳定性和活性
- 具有 His 和 GST 双标签，可以方便的从反应体系中去除 3C 蛋白酶

产品包装规格及组成

Component	AE5104A	AE5104B	AE5104C
Precision 3C protease	200U	1000U	1000U×4
Precision 3C protease Buffer	0.5ml	1ml	5ml

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

酶贮存缓冲液

50 mM Tris-HCl (pH8.0, 25℃), 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0.5 mM, Tris (Hydroxypropyl) Phosphine (THP), 50% Glycerol

注意事项

- 在 50 μl Precision 3C protease Buffer 中，4℃反应 16 小时，1 U 的 Precision 3C protease 能切断至少 95%的测试底物蛋白。但是，由于蛋白质的初级和二级结构以及反应缓冲液不同，切断效率会有所不同，因此，需要进行预实验来确定 Precision 3C protease 的适宜添加量。
- Precision 3C protease 可以在适合于目的蛋白质的缓冲液中进行反应（参照表 1: Buffer 组成对 Precision 3C protease 的影响）。当使用 Ni-NTA 型镍柱来去除蛋白酶反应液中的标签蛋白和蛋白酶时，蛋白酶反应液中不可以含有还原剂（如：2-巯基乙醇）或螯合剂（如：EDTA），这些试剂会导致螯合金属离子的洗脱。
- 可以在 4℃~37℃进行反应，但 4℃是推荐的标准反应温度。
- 另外，本公司具有只带 His 标签的 3C 蛋白酶（目录编号 AE5105），蛋白比活性高，且可以通过镍柱去除反应体系中的 3C 蛋白酶。

使用实例：

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10×Buffer	5ul
蛋白底物	10-20ug
酶(2U/μl)	1-2ul
H ₂ O	Xul
总体积	50ul

2) 混匀后在 4-20℃下，反应 2-16 小时，分别在 1h、2h、4h、8h、16h 后取出 20ul 样品；

3) 向每个样品中加入等体积的 2×SDS 样品缓冲液，进行 SDS 电泳检测目标蛋白切割效果。

表 1. Buffer 组成对 HRV 3C Protease 的影响

组份	活性 (%)*	组份	活性 (%)*
(1 ×HRV 3C Cleavage Buffer)	100	0.5 mM DTT	100
0.2 M NaCl	100	1 mM DTT	100
0.8 M NaCl	< 100	2 mM DTT	100
1 mM ZnCl ₂	100	0.5 mM THP	100
10 mM ZnCl ₂	0	1 mM THP	100
100 mM ZnCl ₂	0	2 mM THP	100
0.1% Triton	100	0.5 mM TCEP	100
1% Triton	100	1 mM TCEP	100
0.1% Tween 20	100	2 mM TCEP	100
1% Tween 20	100	1% Glycerol	100
0.1% Nonidet P40	100	5% Glycerol	< 90
1% Nonidet P40	100	10% Glycerol	< 90
1 mM PMSF	100	0.5 M Urea	0
5 mM PMSF	100	1 M Urea	0
8 mM PMSF	< 100	2 M Urea	0
0.1 mM Leupeptin	< 100	0.5 M Guanidine	0
0.5 mM Leupeptin	< 70	1 M Guanidine	0
0.75 mM Leupeptin	< 70	2 M Guanidine	0
1 mM EGTA	100	0.1 M Imidazole	0
20 mM EGTA	100	0.2 M Imidazole	0
50 mM EGTA	100	0.5 M Imidazole	0
1 mM EDTA	100	10 mM Na Phosphate Buffer	< 90
20 mM EDTA	100	50 mM Na Phosphate Buffer	< 90
50 mM EDTA	100	100 mM Na Phosphate Buffer	< 90

*上述组份加入到 1×HRV 3C Cleavage Buffer 中的相对活性（定义 1×HRV 3C Cleavage Buffer 中的活性为 100%）

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。