

## 重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)

产品编号	产品名称	包装
P2314-500U	重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)	500U
P2314-2KU	重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)	2KU
P2314-10KU	重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)	10KU
P2314-50KU	重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)	50KU

### 产品简介:

- 碧云天生产的重组SENPEUH蛋白酶(His-tag), 即Recombinant SENPEUH (His-tag)或rSENPEUH (His-tag), 是一种通过*E.coli*重组表达经人工改造的新型SENPEUH蛋白酶, 理论分子量为25.7kDa, 主要用于切除酵母或真核细胞体系融合表达的重组蛋白的SUMO<sup>EU1</sup>标签。
- SUMO<sup>EU1</sup>标签作为SUMO的突变体, 在酵母和真核细胞中可以提高目的蛋白的可溶性和稳定性, 而且SUMO<sup>EU1</sup>标签融合的目的蛋白不参于SUMO相关的细胞调控, 也不会被内源性的去SUMO化酶切割, 因此SUMO<sup>EU1</sup>标签适用于酵母和真核细胞重组蛋白的表达和纯化。rSENPEUH高度特异性地识别并切割SUMO<sup>EU1</sup>标签, 实现SUMO<sup>EU1</sup>标签与目的蛋白的高效分离, 切割后的目的蛋白不带有任何相应标签氨基酸的残留[1]。
- 本产品N端带有His-tag, 可以通过相应的His抗体琼脂糖凝胶、磁珠或镍柱吸附去除。
- 本产品酶切SUMO<sup>EU1</sup>标签融合蛋白的效果参考图1。

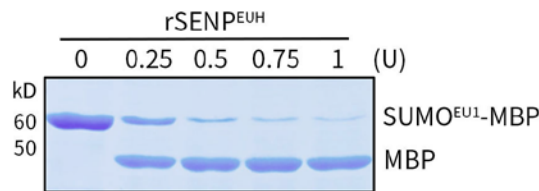


图1. 碧云天生产的重组SENPEUH蛋白酶(His-tag) (P2314)酶切SUMO<sup>EU1</sup>-MBP蛋白的效果图。在30μl反应体系中, 加入10μg SUMO<sup>EU1</sup>-MBP及相应量的本品, 25°C孵育1小时后, 加入7μl SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5X) (P0015), 95°C加热5分钟, 使用BeyoGel™ Plus PAGE预制胶(P0520)进行电泳检测, BeyoBlue™考马斯亮蓝超快染色液(P0017F)进行染色, 可以观察到随着重组SENPEUH蛋白酶的酶量增加, SUMO<sup>EU1</sup>-MBP被酶切的越来越完全。实际效果会因样品种类、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 本产品的基本信息如下表:

蛋白信息(About this protein)	
名称(Name)	重组SENPEUH蛋白酶(His-tag)
别名(Synonyms)	SENPEU, SENPEU, rSENPEUH
分子量(kDa)	25.7kDa
外观(Physical appearance)	液体
活性(Biological activity)	10U/μl
活力单位(Unit definition)	One unit is defined as the amount of enzyme required to digest 10μg of SUMO <sup>EU1</sup> -MBP protein in 1 hour at 25°C, to the extent that the accumulation of SUMO <sup>EU1</sup> tag and MBP as determined by SDS-PAGE.
纯度(Purity)	≥95% by SDS-PAGE, other protease activity not detected.
储存液(Storage buffer)	5mM Tris (pH7.4), 250mM NaCl, 5mM DTT, 50% Glycerol
产品用途(Applications)	切除酵母或真核细胞体系等融合表达的重组蛋白的SUMO <sup>EU1</sup> 标签。

- rSENPEUH最佳酶切温度为25°C, 在较宽的pH范围(6.0-10.0)、较宽的温度范围(2-37°C)、较宽的离子强度范围(0-1M NaCl, 0-500mM Imidazole)内均具有较高的酶活性。在实际操作过程中, 建议4°C酶切过夜以尽可能保持重组蛋白的活性。rSENPEUH在0.5-2mM DTT存在的情况下酶活性更高, 建议酶切体系中加入适当浓度的DTT以提高酶切效率。
- rSENPEUH的酶活性不会被常见的丝氨酸蛋白酶抑制剂(Serine protease inhibitor)如PMSF、AEBSF、Bestatin、Pepstatin、E-4、TLCK和EDTA所抑制。但靶向半胱氨酸(Cysteine)残基的蛋白酶抑制剂如NEM或IAA等, 可以显著抑制rSENPEUH的酶活力。

- 本产品用于移除重组蛋白SUMO<sup>EU1</sup>标签的酶切反应时，如果按照100μg SUMO<sup>EU1</sup>标签融合的重组蛋白使用1μl rSENP<sup>EUH</sup> (10U/μl)，并4°C酶切过夜，本产品的500U、2KU、10KU和50KU包装，分别可用于约5mg、20mg、100mg和500mg带有SUMO<sup>EU1</sup>标签融合重组蛋白的酶切。

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P2314-500U	rSENP <sup>EUH</sup> (His-tag, 10U/μl)	50μl
P2314-2KU	rSENP <sup>EUH</sup> (His-tag, 10U/μl)	200μl
P2314-10KU	rSENP <sup>EUH</sup> (His-tag, 10U/μl)	1ml
P2314-50KU	rSENP <sup>EUH</sup> (His-tag, 10U/μl)	1ml×5
—	说明书	1份

### 保存条件：

-20°C保存，两年有效。

### 注意事项：

- 本产品含50%甘油，-20°C保存不会冻结。须避免-80°C保存，冻融可能会降低本产品的酶活性。
- 本产品较为粘稠，吸取时需注意取样量准确，加样后请注意充分吹打混匀，避免产生气泡。
- 本产品的酶活性与SUMO<sup>EU1</sup>标签和目的蛋白形成的融合蛋白的空间结构有较大的相关性，实测对于一些SUMO<sup>EU1</sup>标签融合蛋白的活性可以达到说明书标注的活性，但对于某些SUMO<sup>EU1</sup>标签融合蛋白的酶切活性会差别比较大。对于遇到本产品酶活性相对较低的情况，需要大幅度加大酶的用量。如果希望获得更高的酶切活性，此时建议在许可的范围内适当增减或变更目的蛋白与SUMO<sup>EU1</sup>标签连接处的氨基酸序列，以获得更好的酶切效果。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明：

#### 1. 酶切条件的优化。

由于不同SUMO<sup>EU1</sup>标签融合的重组蛋白具有不同的特性，为获得比较理想的实验效果，建议对酶和待酶切的SUMO<sup>EU1</sup>标签融合蛋白的使用比例进行适当优化，按照如下步骤摸索rSENP<sup>EUH</sup>的理想用量。

- 取1μl rSENP<sup>EUH</sup> (10U/μl)加入到9μl Reaction Buffer (需用户自备)中，将rSENP<sup>EUH</sup>稀释至1U/μl。

**注：**由于rSENP<sup>EUH</sup>在较宽的pH范围(6.0-10.0)，较宽的温度范围(2-37°C)，较宽的离子强度范围(0-1M NaCl, 0-500mM Imidazole)内均具有较高的酶活性，因此对Reaction Buffer组分不作特定限制，但是在0.5-2mM DTT存在的情况下rSENP<sup>EUH</sup>的酶活性更高，可根据实验需要决定酶切体系中是否加入适当浓度的DTT。

- 请参考下表在1.5ml离心管中配制反应体系。

Component	Volume
SUMO <sup>EU1</sup> -tag Protein (10μg)	xμl
rSENP <sup>EUH</sup> (1U/μl)	0, 1, 5 or 10μl
Reaction Buffer	To 20μl

- 进行酶切反应。温度与时间可以视情况进行适当调整，具体请参考下表。

Temperature	Time
4°C	overnight
16°C	4h
25°C	2h
37°C	1h

- 加入4μl SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(6X) (P0289)，混匀后95°C加热5分钟，使用BeyoGel™ Plus PAGE预制胶(P0520)进行电泳检测并使用考马斯亮蓝(P0017F)染色。
- 观察考马斯亮蓝染色的SDS-PAGE胶，SUMO<sup>EU1</sup>标签被完全切除是比较理想的rSENP<sup>EUH</sup>酶用量，可按照等比例放大应用到后续的酶切反应中。
- 如按照上述操作，SUMO<sup>EU1</sup>标签没有被完全切除，可以尝试增加rSENP<sup>EUH</sup>酶用量，延长酶切时间或提高酶切温度，以获得最佳的酶切效果。

#### 2. 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<sup>EU1</sup>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<sup>EU1</sup>标签，以及带有His标签的本产品重组SUMO<sup>EU1</sup>蛋白酶，从而获得高纯度的去除了SUMO<sup>EU1</sup>标签的目的蛋白。也可以对于同时带有His标签的SUMO<sup>EU1</sup>标签的融合表达蛋白进行在柱酶切，即在镍柱或GST柱结合带有His标签的SUMO<sup>EU1</sup>标签的融合蛋白时，进行rSENP<sup>EUH</sup> (His-tag)的酶切，酶切后如果镍柱容量足够，rSENP<sup>EUH</sup> (His-tag)和酶切下来的带有His标签的SUMO<sup>EU1</sup>标签都会结合在镍柱上，仅目的蛋白会被洗脱下来。

参考文献:

1. Vera Rodriguez A, Frey S, Görlich D. J Cell Biol. 2019. 218(6):2006-2020.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P2312S	SUMO Protease	200U
P2312M	SUMO Protease	1000U
P2312L	SUMO Protease	5000U
P2313-500U	重组SEN2蛋白酶(His-tag)	500U
P2313-2KU	重组SEN2蛋白酶(His-tag)	2KU
P2313-10KU	重组SEN2蛋白酶(His-tag)	10KU
P2313-50KU	重组SEN2蛋白酶(His-tag)	50KU
P2314-500U	重组SEN <sup>EUH</sup> 蛋白酶(His-tag)	500U
P2314-2KU	重组SEN <sup>EUH</sup> 蛋白酶(His-tag)	2KU
P2314-10KU	重组SEN <sup>EUH</sup> 蛋白酶(His-tag)	10KU
P2314-50KU	重组SEN <sup>EUH</sup> 蛋白酶(His-tag)	50KU
D2975-1μg	pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMO <sup>EU1</sup> -Neo (Avi标签质粒)	1μg
D2975-100μg	pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMO <sup>EU1</sup> -Neo (Avi标签质粒)	100μg
D2977-1μg	pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMO <sup>EU1</sup> -MCS-IRES-BirA(生物素标记质粒)	1μg
D2977-100μg	pCMV-N-3X Flag-Avi-SUMO <sup>EU1</sup> -MCS-IRES-BirA(生物素标记质粒)	100μg
D2979-1μg	pCMV-N-3X Flag-SUMO <sup>EU1</sup> -MCS-Avi (Avi标签质粒)	1μg
D2979-100μg	pCMV-N-3X Flag-SUMO <sup>EU1</sup> -MCS-Avi (Avi标签质粒)	100μg
D2981-1μg	pCMV-N-3X Flag-SUMO <sup>EU1</sup> -MCS-Avi-IRES-BirA (生物素标记质粒)	1μg
D2981-100μg	pCMV-N-3X Flag-SUMO <sup>EU1</sup> -MCS-Avi-IRES-BirA (生物素标记质粒)	100μg

Version 2022.09.06