



PreScission Protease (HRV-3C Protease)

产品说明书

产品说明

货号	PLT002	产品形态	液体
分子量	48 kDa	有效期	12 个月
标签	N-his&N-GST	活性	$\geq 10 \text{ U}/\mu\text{l}$
酶活定义	4°C反应 16 小时，能够切割 100μg 融合蛋白达 90%以上所需的酶量定义为一个活性单位。		
储存条件	-20 °C 保存		
保存缓冲	20 mM Tris-HCl(pH 8.0), 100 mM NaCl, 20% glycerol, 1 mM DTT, 1mM EDTA		
质量控制	纯度≥90%		

产品组分

编号	组分名称	规格		
		PLT002S	PLT002M	PLT002L
1	PreScission Protease	100 U	500 U	2000 U
2	10× Cleavage Buffer	2 ml	10 ml	40 ml

操作说明

1. 反应底物制备

含 PreScission Protease 识别序列的融合蛋白质可以通过重组表达制备。

2. 初始条件摸索

按照下表设置酶切反应体系：

组分	使用量
ddH2O	Up to 50 μl
PreScission Protease (10U/μl)	0.1 μl
10× Cleavage Buffer	5 μl
反应底物	10-100 μg

将反应混合物置于 4°C 反应 15-16h，取样进行 SDS-PAGE 分析，根据结果，优化反应所需的最适酶量。

3. 目的蛋白酶切

(a) 柱上酶切：根据上述最适的 PreScission Protease 与目的蛋白质比例，用 1× Cleavage Buffer 稀释 PreScission Protease 后加入纯化柱中，于 4°C 酶切 12-16h，用 1 倍柱体积的 1× Cleavage Buffer 酶切缓冲液洗涤，重复三次，分别收集每次的洗涤液，洗脱液中含有切除了标签的目的蛋白。

(b) 柱下酶切：使用脱盐柱或用 1× Cleavage Buffer 缓冲液进行透析除去洗脱组分中的 GSH、咪唑等特殊组分，加入合适质量的 PreScission Protease，4°C 孵育 12-16h，将酶切后的样品加入 GST 或 his 亲和纯化树脂，室温结合 20-30 分钟，500g 离心 5 分钟，收集上清，其中含有切除标签的目的蛋白。

注意事项

1. 100mM ZnCl₂、4mM AEBSF 和 100μM Chymostatin 将抑制 PreScission Protease 50% 以上酶活性；

2. 建议将各组分装为每次使用量，置于-20°C 保存，避免反复冻融。

本公司提供的 PreScission Protease 是人鼻病毒 14 型的 3C 蛋白酶(human rhinovirus type 14 3C protease)，经大肠杆菌重组表达纯化获得，能特异性地识别八肽序列 Leu-Glu-Val-Leu-Phe-Gln-Gly-Pro 或核心五肽序列 Leu-Phe-Gln-Gly-Pro，并在 Gln 和 Gly 氨基酸残基之间进行酶切。此酶带有 N-his 和 N-GST 双标签，用于去除融合蛋白的 GST 标签、His 标签或者其它标签。