



**SUMO Protease (ULP1)**  
**产品说明书**

**产品说明**

<b>货号</b>	PLT003	<b>产品形态</b>	液体
<b>分子量</b>	26.5 kDa	<b>有效期</b>	12 个月
<b>标签</b>	N-his	<b>活性</b>	$\geq 1 \text{ U}/\mu\text{l}$
<b>酶活定义</b>	30°C反应 1 小时，能够切割 2 $\mu\text{g}$ 底物达 85%以上所需的酶量定义为一个活性单位。		
<b>储存条件</b>	-20 °C 保存		
<b>保存缓冲</b>	20 mM Tris-HCl( pH 7.5), 200 mM NaCl, 20% glycerol		
<b>质量控制</b>	纯度≥90%，无非特异性蛋白酶残留		

组分	使用量
ddH <sub>2</sub> O	Up to 200 $\mu\text{l}$
SUMO Protease (1U/ $\mu\text{l}$ )	10 $\mu\text{l}$
10× Cleavage Buffer	20 $\mu\text{l}$
反应底物	20 $\mu\text{g}$

将反应混合物置于 4°C 反应 12-16 小时，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 SUMO Protease 与目的蛋白质比例，用 1× Cleavage Buffer 稀释 SUMO Protease 后加入纯化柱中，于 4°C 酶切 12-16 小时，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 SUMO Protease，4°C 孵育 12-16 小时，将酶切后的样品加入 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. SUMO Protease 在 10×Protease Buffer (-salt) 中活性相对较高，但对于不稳定的蛋白质应选择 10×Protease Buffer (+salt)；
2. 反应体系中，控制氯化钠终浓度在 100-300mM，咪唑浓度不高于 150mM；
3. 建议将 SUMO Protease 分装为每次使用量，置于-20°C 保存，避免反复冻融。

**产品组分**

编号	组分名称	规格		
		PLT003S	PLT003M	PLT003L
1	SUMO Protease	100 U	500 U	1000 U
2	10× Cleavage Buffer (-salt)	500 $\mu\text{l}$	2.5 mL	5 mL
3	10× Cleavage Buffer (+salt)	500 $\mu\text{l}$	2.5 mL	5 mL

**操作说明**

## 1. 反应底物制备

含 SUMO 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：

本公司提供的 SUMO Protease 来自 *Saccharomyces cerevisiae* 的高活性的半胱氨酸蛋白酶，高度特异性识别 SUMO 化修饰或 SUMO 结构域，并水解 SUMO 羧基端(C 端) x-Gly-Gly-x 肽段中 Gly-Gly 后的肽键。此酶带有 N-his 标签，可以和融合蛋白的 His-SUMO 标签一起通过镍柱去除。