

M5 SUMO 蛋白酶使用说明书

Product	Unit	Cat.#
M5 SUMO 蛋白酶	200U (100ul)	MF645-01
M5 SUMO 蛋白酶	1000U (5x100ul)	MF645-05

【Storage】:

长期贮存于-80°C, 或解冻后保存于-20°C, 避免反复冻融。

【产品组分】:

	MF645-01	MF645-05
M5 SUMO 蛋白酶 (5U/μl)	40ul	5x40ul
10× SUMO Protease Buffer	0.4ml	5x0.4ml

【产品介绍】:

SUMO 蛋白酶 (SUMO Protease), 也称 ULP 蛋白酶, 是一种高活性的半胱氨酸蛋白酶, 它能够高效地把 SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) 从融合蛋白上切割下来。不同于大多数蛋白酶 (识别位点为氨基酸序列), SUMO 蛋白酶识别 SUMO 蛋白的三级结构, 所以具有极高的特异性。SUMO 融合蛋白经 SUMO 蛋白酶切割后, 无末端残留残基, 可以获得具有自然氮末端的目标蛋白 (氮末端为脯氨酸的除外)。SUMO 蛋白酶的最适反应温度为 30°C, 可以在较为宽范围的反应体系 (温度 4-30°C, pH 5.5-9.5) 中保持活性, 并且对部分蛋白变性剂有一定的耐受能力。Sumo 蛋白酶具有多聚组氨酸标签 (polyhistidine tag), 便于融合蛋白切割后的亲和层析纯化。

【酶活定义】:

在 30°C 条件下反应 1 小时, 切割 100 μg 的反应底物 (SUMO-eGFP) 达 90% 以上所需的酶量定义为一个活性单位。

【来源】: 重组 *E. coli* 菌株, 含有酿酒酵母 Ulp1 基因片段。

【推荐反应体系】:

反应物	体积
SUMO 融合蛋白	1000 μg
M5 SUMO 蛋白酶 (5 U/μl)	2 μl
10× SUMO Protease Buffer	20 μl
水定容至	1000 μl
总体积	1000 μl

*1 U M5 SUMO 蛋白酶在 30°C 条件下反应 1 小时, 可以切割大于 90 μg 的反应底物 (SUMO-eGFP), 但对于其它底物的切割效率可能会有差异, 初次反应推荐使用 2 U 的 Sumo 蛋白酶切割 10 μg 底物。

各温度下的参考反应时间:

4°C 反应, 15-16 小时
 16°C 反应, 4 小时
 25°C 反应, 1.5 小时
 30°C 反应, 1 小时

【注意事项】：

1. 常用化学品对 SUMO 蛋白活性的影响：

化学品	浓度	SUMO蛋白酶酶活 (%)
Phosphate-buffered saline (PBS)	1×	100
DTT或 β-巯基乙醇	20 mM	100
NaCl**	150 mM	100
尿素	500 mM	60
盐酸胍	1 M	30
Triton X-100	1 M	100
咪唑	2 M	95
GSH (还原型谷胱甘肽)	3 M	5
麦芽糖	500 mM	60
甘油	1 M	0
乙二醇	1%	100
蔗糖	300 mM	100
乙醇	20 mM	100

**对于大部分融合蛋白，SUMO 蛋白酶反应体系中 NaCl 的推荐浓度为 150 mM。然而，根据实际情况可在 100 mM~300 mM 之间调节 NaCl 的浓度以达到最佳的效果。请务必考虑到酶储液中的盐浓度和底物中的盐浓度。

2. 当融合蛋白中 SUMO 蛋白碳末端甘氨酸后的残基为脯氨酸时，SUMO 蛋白酶无法切割(4)

