

M5 SUMO 蛋白酶使用说明书

Product	Unit	Cat.#
M5 SUMO 蛋白酶(2U/μl)	200U (100ul)	MF645-01
M5 SUMO 蛋白酶(2U/μl)	1000U (5x100ul)	MF645-05

【Storage】：长期贮存于-80℃，或解冻后保存于-20℃，避免反复冻融。

【产品组分】：

	MF645-01	MF645-05
M5 SUMO 蛋白酶 (2U/μl)	100ul	5x100ul
10× SUMO Protease Buffer(Salt Free)	1.0 ml	5x1.0ml
10× SUMO Protease Buffer(Salt Plus)	1.0 ml	5x1.0ml

【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℃，可以在较为宽范围的反应体系 (温度 4-30℃，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。

【储存溶液】： 25mM Tris-HCl(pH8.0, 25℃)，250 mM NaCl， 50uM DTT, 1.0% NP-40 和 50%甘油 (V/V)

【反应缓冲液】：

10× SUMO Protease Buffer(Salt Free): 500 mM Tris-HCl(pH8.0, 25℃), 10mM DTT, 2.0% NP-40;

10× SUMO Protease Buffer(Salt Plus): 500 mM Tris-HCl(pH8.0, 25℃), 10mM DTT, 2.0% NP-40, 1.5M NaCl。

【酶活定义】：在 30℃ 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	适量*($<200\ \mu\text{g}$)
M5 SUMO 蛋白酶 (2U/μl)	1 μl
10× SUMO Protease Buffer (可选**)	10 μl
水定容至	100 μl

*1 U M5 SUMO 蛋白酶在 30℃ 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。

** 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 150mM，然而，根据实际情况可在 100mM-300mM 之间条件 NaCl 浓度以达到最佳效果。在实验过程中要先看一下洗脱时 buffer 中的盐浓度，如果浓度高就选不带盐的，如果浓度低就选带盐的。

各温度下的参考反应时间：

4℃ 反应， 15-16 小时

16℃ 反应， 4 小时

25℃ 反应， 1.5 小时

30℃ 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。



Please note: All products are "FOR RESEARCH USE ONLY AND ARE NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USE"