

HRV-3C Protease

Code No. 317-09301

保存:

Store at -20°C

製品説明:

Human rhinovirus type 14 由来の 3C プロテアーゼ (HRV-3C Protease) は、特異的な 8 アミノ酸配列 Leu-Glu-Val-Leu-Phe-Gln-Gly-Pro を認識し Gln と Gly の間を切断します。本品は、N 末端に GST タグ、C 末端に 8×His タグを融合させた高純度なタンパク質です。

<特長>

- ・ HRV-3C プロテアーゼ認識配列をもつ目的タンパク質から融合タグの切断除去に有用です。
- ・ アフィニティ精製用タグ (GST、8×His) が付加されています。
- ・ 反応後、GST タグを用いると、本酵素の除去が容易です。(詳細は裏面参照)

製品内容:

構成成分	濃度	容量
HRV-3C Protease	2.5 mg/mL	1 mg (400 μL×1)

形状:

50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 200 mM NaCl, 1 mM DTT, 20 % Glycerol

起源:

遺伝子組換え大腸菌

純度:

SDS-PAGE により 90%以上の精製度を示す。

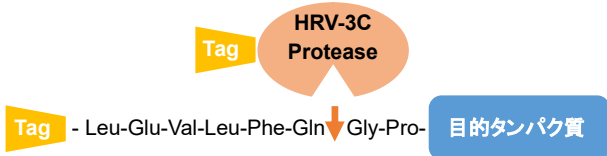
凍結融解に関する注意:

- ・ 凍結融解の繰り返しは 10 回以内にして下さい。必要に応じて製品を小分けすることを推奨します。
- ・ 融解に時間をかけると酵素活性が低下するおそれがあります。融解させる際は室温の水で解凍し、解凍後直ちに 4°Cもしくは氷上に移して下さい。
- ・ 使用時は、緩やかに 1~2 回転倒混和し軽くスピンドアウンして下さい。
- ・ ボルテックスによる混合は行わないで下さい。激しい混和は析出・活性低下を引き起こすおそれがあります。
- ・ 融解時に析出が見られる場合があります。その場合は遠心分離 (12,000 ×g, 5 分間, 4°C) し、上清を実験に使用して下さい。

備考:

本製品は理化学研究所放射光科学研究センター (生物系ビームライン基盤グループ) 山本雅貴先生、竹下浩平先生との共同研究に付帯する技術支援のもとに開発されました。

本品は、試薬 (試験研究用) として販売しているものです。
医薬品の用途には使用しないで下さい。



イメージ図: HRV-3C プロテアーゼによるタグ切断

目的タンパク質とタグの間に HRV-3C プロテアーゼ認識配列を挿入しておくことで、目的タンパク質とタグを HRV-3C プロテアーゼにより切り離すことができます。

使用例:

リコンビナントタンパク質を設計する際、N 末端に GST タグと HRV-3C プロテアーゼ認識配列を付与し、認識配列の直後に目的タンパク質をつなげておくことにより、本品を効果的に使用できます。

発現させたリコンビナントタンパク質を精製用タグにより精製



本酵素を加えて反応させることで精製用タグを目的タンパク質から切断



反応後、吸着カラムに通して遊離したタグ及び本酵素を目的タンパク質と分離

得られる目的タンパク質は、N 末端に HRV-3C プロテアーゼ認識配列由来の Gly-Pro のアミノ酸 2 残基のみが付与された状態となります。

<切断反応>

切断対象となるタンパク質 1 mg あたり HRV-3C プロテアーゼを 10-100 μg (本品 4-40 μL) 加え 4°C で一晚反応させます。

サンプル溶液の組成やタンパク質のアミノ酸配列及び立体構造により切断効率は影響を受けます。切断したいサンプルごとに添加量及び反応時間について検討して下さい。

<本酵素の除去>

反応後の溶液から本酵素を除去する際、本品の N 末端側に付与した GST タグを利用できます。溶液を GST タグ精製用カラムに通すことで本酵素はカラムに吸着し、素通りするサンプルと分離します。

本酵素の C 末端には 8 × His タグが付与されていますが、His タグを用いた本酵素の再回収率は 50% 以下となることがあるため、GST タグの使用をお勧めいたします。