

# RobustCutter SUMO蛋白酶

组分	#M0201	#M0202
SUMO蛋白酶 (2 U/μl)	100 μl	100 μl×5
10× SUMO Protease缓冲液 (Salt Plus)	1.0 ml	1.0 ml×5
10× SUMO Protease缓冲液 (Salt free)	1.0 ml	1.0 ml×5

**概述:** 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<sup>(1)</sup>, 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<sup>(2,3)</sup>。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)<sup>(4)</sup>。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<sup>(4)</sup> (详见下文)。RobustCutter 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。

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

**酶活性单位定义:** 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。

#### 溶液成分:

##### SUMO蛋白酶贮存液:

- 25 mM Tris-HCl (pH 8.0 @ 25°C)
- 1% IGEPAL® CA-630 (NP-40)
- 250 mM NaCl
- 50 μM DTT
- 50% (v/v) 甘油

##### 10× SUMO Protease Buffer (Salt plus)

- 500 mM Tris-HCl (pH 8.0 @ 25°C)
- 2% IGEPAL® CA-630 (NP-40)
- 1.5 M NaCl
- 10 mM DTT

##### 10× SUMO Protease Buffer (Salt free)

- 500 mM Tris-HCl (pH 8.0 @ 25°C)
- 2% IGEPAL® CA-630 (NP-40)
- 10 mM DTT

#### 推荐反应体系:

反应物	体积
SUMO融合蛋白	10 μl (10 μg <sup>[#]</sup> )
RobustCutter Sumo Protease	1 μl (2 U/μl)
10× SUMO Protease Buffer +/- Salt	10 μl
水	79 μl
总体积	100 μl

[#]: 1 U RobustCutter 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RobustCutter 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

**贮存条件:** 长期贮存于-80°C, 或解冻后保存于-20°C, 避免反复冻融, 可稳定保持活性半年以上。

## 注意事项:

### 1. 常用化学品对SUMO蛋白活性的影响<sup>(4)</sup>:

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 <sup>[*]</sup>	150 mM	100
	500 mM	60
	1 M	30
尿素	1 M	100
	2 M	95
	3 M	5
盐酸胍	500 mM	60
	1 M	0
Triton X-100	1%	100
咪唑	300 mM	100
GSH (还原型谷胱甘肽)	20 mM	100
麦芽糖	20 mM	100
甘油	20% (v/v)	100
乙二醇	20% (v/v)	100
蔗糖	20% (v/v)	100
乙醇	10% (v/v)	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<sup>(4)</sup>。

## 参考文献:

- Li, S.J. and Hochstrasser, M. (1999) *Nature*, 398, 246-251.
- Müller, S., Hoegel, C., Pyrowolakis, G. and Jentsch, S. (2001) *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, 2, 202-210.
- Mossessova, E. and Lima, C.D. (2000) *Mol. Cell*, 5, 865-876.
- Panavas, T., Sanders, C., and Butt, T.R. (2009) *Methods Mol. Biol.*, 497, 303-317.