

FUJIFILM

Wako

Code No. 206-18151 (1 mg)

Turbo3C Protease, recombinant, Solution (HRV3C Protease)

HRV3C Protease (Human rhinovirus 3C Protease) is a cysteine protease which recognizes the cleavage site ; Leu-Glu-Val-Leu-Phe-Gln ↓ Gly-Pro. HRV3C Protease can be used for removal of tag from tag fusion protein which has the cleavage site of HRV3C Protease. Turbo3C Protease is HRV3C Protease with His tag and GST tag. Therefore Turbo3C Protease can be removed by either Ni chelating resin or GSH (Glutathione) resin. Turbo3C Protease has significant activity at 4°C, so it is difficult for other proteases to show activity and the target protein may be obtained with the stable form.

Source : *E. coli* expressed Turbo3C protease (human rhinovirus 3C protease)

Storage buffer : 25 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5), 125 mmol/L NaCl, 1 mmol/L TCEP-HCl and 50% Glycerol.

Activity : Indicated on the label.

Unit definition : 1 unit is the amount of enzyme which cleaves min. 95% of 100 μg of target protein at 4°C for 16 hours.

Protein : Indicated on the label.

Molecular weight : approximately 47,000

Cleavage site : Leu-Glu-Val-Leu-Phe-Gln ↓ Gly-Pro

Usage

1. Cleavage condition

1 unit of Turbo3C Protease cleaves 50 - 400 μg of the target protein in most cases. The efficiency of cleavage may vary with the sequences around the cleavage site and the conformation and the solubility of target protein. It is recommended to test using 1 unit of Turbo3C Protease to 100 μg of target protein in a suitable buffer for the target protein at 4°C overnight. The final concentration of the target protein is 1 - 2 mg/mL. The optimum ratio should be determined after examining these results.

Turbo3C Protease can be used at a higher ratio (1 unit : 10 μg) or for longer reaction time (over a weekend) at higher temperature (37°C) in order to get high cleavage efficiency because of its high specificity.

— 1/4 —

Example of the reaction buffer :
25 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0), 150 mmol/L NaCl and 14 mmol/L 2-Mercaptoethanol.

Note : Reaction buffer should be compatible with the downstream processes. For example, when Ni chelating resin will be used to remove the His tagged protein, minimum amount of EDTA or DTT should be used.

2. Removal of Turbo3C Protease

After cleavage of the target protein, apply the reaction mixture of target protein and Turbo3C Protease to affinity columns if the reaction buffer is suitable for the affinity columns. Turbo3C Protease can be easily removed by affinity chromatography on a Ni chelating resin (for His tagged protein) or GSH resin (for GST tagged protein).

[Storage] Store at -20°C in the dark.

Note : Precipitation may form on rare occasions. If this occurs, centrifuge the tube at top speed in a microcentrifuge for 10 minutes. Put the supernatant in a clean tube and store at -20°C.

[Package] 1 mg

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshinachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : +81-6-6203-3741
Facsimile : +81-6-6201-5964
<http://fwwk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : +1-804-271-7677
Facsimile : +1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : +49-2131-311-0
Facsimile : +49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

— 2/4 —

コードNo. 206-18151 (1mg)

Turbo3C プロテアーゼ, 組換え体, 液体 (HRV3Cプロテアーゼ)

HRV3C プロテアーゼ (Human rhinovirus 3C プロテアーゼ) は、特定の切断部位 : Leu-Glu-Val-Leu-Phe-Gln ↓ Gly-Pro を認識するシステインプロテアーゼです。HRV3C プロテアーゼ認識配列を持つタグ融合タンパク質のタグ切断に用いることができます。Turbo3C プロテアーゼは、His タグおよび GST タグが付加された HRV3C プロテアーゼですので、タグ切断後、ニッケルキレート担体または、GSH (グルタチオン) 搅拌を用いて反応液から取り除くことができます。また、Turbo3C プロテアーゼは、4°C で十分な活性を示しますので、他のプロテアーゼの影響を受けてなく、また目的タンパク質を活性を損なうことなく安定な状態で得ることができます。

由 来 : *E. coli* expressed Turbo3C protease (human rhinovirus 3C protease)

形 状 : 25mmol/L Tris-HCl (pH 7.5), 125mmol/L NaCl, 1mmol/L TCEP-HCl and 50% Glycerol.

活 性 : ラベルに表示

単位の定義 : 4°C、16 時間で HRV3C プロテアーゼ認識配列を持つタグ融合タンパク質 100 μg を 95% 以上切断する酵素量を 1unit とする。

タンパク質 : ラベルに表示

分 子 量 : 約 47,000

切断部位 : Leu-Glu-Val-Leu-Phe-Gln ↓ Gly-Pro

使用法

1. 切断条件

Turbo3C プロテアーゼは、ほとんどの場合、1unit で 50 ~ 400 μg の目的タンパク質を切断します。切断効率は、目的タンパク質の切断部位付近の配列、構造、溶解性などによって異なります。まず最初に、目的タンパク質 100 μg に対して、Turbo3C プロテアーゼ 1unit を用い、適当なバッファー内で 4°C、一晩反応させることをお奨めします。その際、目的タンパク質の終濃度は 1 ~ 2mg/mL となるように調製して下さい。最適な反応条件は、ご検討下さい。

Turbo3C プロテアーゼは、その高い特異性により、高い切断効率を得るために、より高い割合 (目的タンパク質 10 μg に対し、Turbo3C プロテアーゼ 1unit) または、より長い反応時間 (2、3 日) より高温 (37°C) で用いることができます。

反応バッファー例 :

25mmol/L Tris-HCl (pH 8.0), 150mmol/L NaCl and 14mmol/L 2-Mercaptoethanol.

注意 : できれば切断反応後の工程にも適した反応バッファーをご使用下さい。例えば、His タグタンパク質を取り除くためにニッケルキレート担体を用いる場合は、EDTA または DTT の使用量は最低限に抑えるのが望ましいです。

2. Turbo3C プロテアーゼの除去

反応バッファーがアフィニティカラムに適したバッファーの場合は、目的タンパク質の切断反応後、目的タンパク質と Turbo3C プロテアーゼを含む反応液をアフィニティカラムにアプライして下さい。ニッケルキレート担体 (His タグ融合タンパク質) または、GSH 携体 (GST タグ融合タンパク質) を用いたアフィニティクロマトグラフィーにより Turbo3C プロテアーゼを容易に取り除くことができます。

【保存条件】 - 20°C・遮光保存

注意 : まれに沈殿が見られる場合があります。その場合は、遠心分離 (最高速度、10 分間) 後、上清を新しいチューブに移し、-20°C で保存して下さい。

【包 装】 1mg

製造発売元

富士フィルム 和光純薬株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号

Tel : 06-6203-3741