

Seebio® TEV 蛋白酶 (TEV Protease) 活性测定试剂盒产品说明书

【产品名称】

Seebio® TEV 蛋白酶 (TEV Protease) 活性测定试剂盒(荧光法)

【产品编码】

EKM0101B

【包装规格】

产品货号	组份名称及包装规格
EKM0101B-50T	TEV 酶标准品(5U/μl): 1×50μL 5×TEV buffer: 1×1mL 底物溶液: 1×400μL 终止液: 1×1mL 溶液 A: 1×5mL 溶液 B: 2×1mL

【产品基本信息和用途】

TEV 蛋白酶(烟草蚀刻病毒蛋白酶)是一种半胱氨酸蛋白酶,识别序列为 Glu-X-X-Y-X-Gln-Gly/Ser,裂解位于 Gln 和 Gly/Ser 之间。本试剂盒基于 TEV 蛋白酶的特异性底物肽被切割后形成稳定、高荧光、低背景的荧光产物,通过荧光分光光度计检测 386nm 激发光下,480nm 发射光的荧光强度,再利用标准曲线准确定量出 TEV 蛋白酶的活性。

【产品特点和优势】

1. 本检测试剂盒简单、快速,适合纯品及组织裂解液上清中 TEV 酶活性的定量检测;
2. TEV 蛋白酶活性的线性检测范围为 1~10U/μl;
3. 稳定、高荧光、低背景。

【使用说明】

使用前,请事先准备好 96 微孔板或无菌离心管、无菌水、恒温培养箱或水浴锅、微量移液器、荧光分光光度计等。

1. 标准品溶液制备:按照下表配制 TEV 标准品反应液(设 2-3 复孔):

加入酶活	10U	5U	2.5U	2U	1U	阴性
TEV 酶标准品	2 μl	1 μl	0.5 μl	0.4 μl	0.2 μl	/
5×TEV Buffer	8 μl	8 μl	8 μl	8 μl	8 μl	8 μl
底物	7.5 μl	7.5 μl	7.5 μl	7.5 μl	7.5 μl	7.5 μl
超纯水	22.5 μl	23.5 μl	24 μl	24.1 μl	24.3 μl	24.5 μl
总体积	40 μl	40 μl	40 μl	40 μl	40 μl	40 μl

2. 样品制备:按照下表配制 TEV 样品反应液(设 2-3 复孔):

样品稀释液	稀释度 1	稀释度 2	稀释度 3	稀释度 4	稀释度 5
TEV 酶标准品	2 μl	2 μl	2 μl	2 μl	2 μl
5×TEV Buffer	8 μl	8 μl	8 μl	8 μl	8 μl
底物	7.5 μl	7.5 μl	7.5 μl	7.5 μl	7.5 μl
超纯水	22.5 μl	22.5 μl	22.5 μl	22.5 μl	22.5 μl
总体积	40 μl	40 μl	40 μl	40 μl	40 μl

3. 检测流程:

- (1) 将微孔板置于 30°C 恒温孵育 10min;
- (2) 孵育完成后,加入终止液,10ul/孔,混匀;
- (3) 加入 87.5ul 溶液 A 与 35ul 溶液 B,混匀;
- (4) 荧光分光光度计检测 386nm 激发光下,480nm 发射光的荧光强度。

4. 数据分析:

计算各孔净荧光值(检测值-阴性对照)和每组平均净荧光值,绘制标准曲线。根据标准曲线计算获得样品活性值。

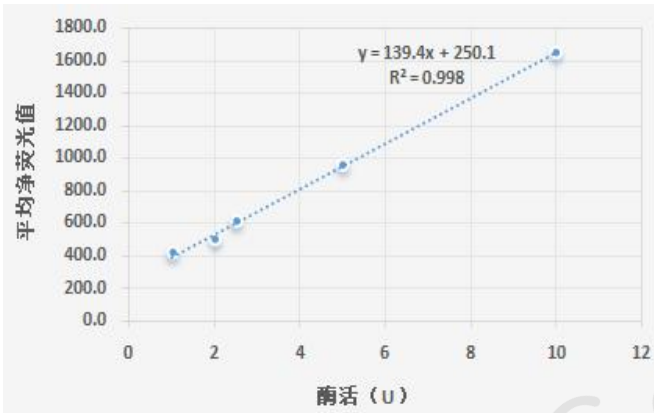
【应用示例】

1. 获得测定值,计算平均净荧光值

酶活 (U/μl)	标准品 荧光测定值		平均净 荧光值
	复孔 1	复孔 2	
10	1814.7	1815.9	1644.9
5	1123.7	1121.6	952.3
2.5	776.82	774.9	605.5
2	665.78	665.1	495.1
1	583.13	580.4	411.4
阴性	341.12	340.3	/

样品 编号	样品 荧光测定值		平均净 荧光值
	复孔 1	复孔 2	
	样品 1	1567.5	
样品 2	1062.8	1063.5	892.8
样品 3	729.45	727.8	558.3
样品 4	688.66	687.2	517.6

2. 绘制标准曲线, 拟合回归方程



3. 根据回归方程, 计算样品活性

编号	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
活性 (U/ μ l)	8.23	4.61	2.21	1.92

【运输、储存条件和有效期】

冷藏运输。-20℃保存, 有效期 24 个月。

【注意事项】

本试剂盒仅供研究使用, 不可用于诊断程序。

【技术支持服务】

您如有疑问或反馈, 请联系

Tel: +0086-21-50272981*6217 或

Email: market@seebio.cn

西宝生物二维码

