



MERCK

# Site Specific Protease タグ切断プロテアーゼ

融合タンパク質を特異的に切断します！



Novagen®

The life science business  
of Merck operates as  
MilliporeSigma in the  
U.S. and Canada.

Millipore®

Preparation, Separation,  
Filtration & Testing Products

# site specific protease タグ切断プロテアーゼ

高性能

高純度

融合タンパク質を特異的に切断します！

- **Thrombin, Restriction Grade (トロンビン)**
- **Biotinylated Thrombin (ビオチン化トロンビン)**

他のプロテアーゼの混入はありません。ビオチン化トロンビンには、ビオチンが付加されており、反応後、ストレプトアビジンアガロースに吸着させて反応液から除くことができます。Thrombin Cleavage Capture Kit は Biotinylated Thrombin とストレプトアビジンアガロースのセット製品です。

- **Recombinant Enterokinase (エンテロキナーゼ)**

ウシのエンテロキナーゼ触媒サブユニットの高純度リコンビナントです。天然の酵素より高い特異性を示します。Enterokinase Cleavage Capture Kit にはアガロースビーズがセットになっています。反応後にエンテロキナーゼをビーズに結合させて溶液から除くことができます。

- **Factor Xa**

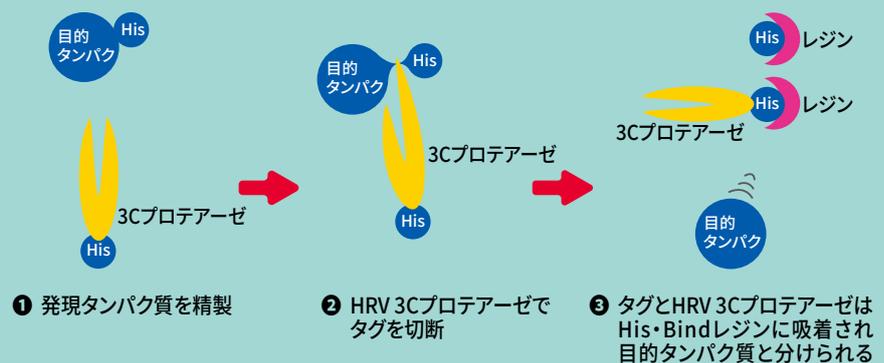
ウシ血漿由来の高純度精製品です。活性化済み。他のプロテアーゼの混入はありません。エンテロキナーゼと同様、認識配列 (IleGluGlyArg ↓) の C 末端側を切断するので、ベクターコンストラクトからベクター由来の配列をすべて取り除くことができます。Factor Xa Cleavage Capture Kit にはアガロースビーズがセットになっています。反応後に Factor Xa をビーズに結合させて溶液から除くことができます。

- **HRV 3C protease**

4°C~37°Cで活性を持つので、タンパク質の構造が安定した状態で使用できます。His・Tag 配列をもっており、反応後 His・Bind レジンに吸着させて除去できます (図)。22 kDa の小さいプロテアーゼです。溶液中、カラム上、透析中での酵素反応が可能です。



## HRV 3Cプロテアーゼ 操作手順

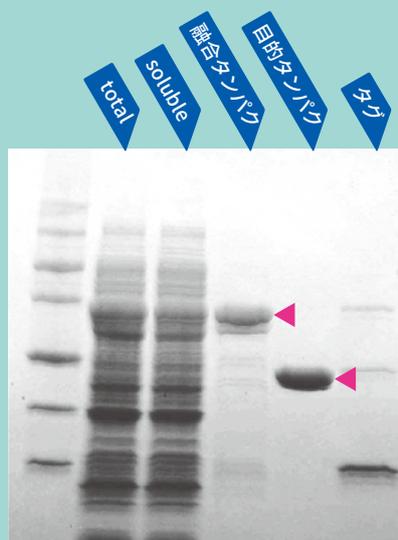


# pET Vector Features

Vector	Fusion Tags		Protease Cleavage Sites
	N-terminal	C-terminal	
pET-14b	His•Tag	none	Tb
pET-15b	His•Tag	none	Tb
pET-16b	His•Tag	none	Xa
pET-19b	His•Tag	none	Ek
pET-20b(+)	Signal sequence	His•Tag™	SP
pET-22b(+)	Signal sequence	His•Tag	SP
pET-25b(+)	Signal sequence	HSV•Tag™/His•Tag	SP
pET-26b(+)	Signal sequence	His•Tag	SP
pET-27b(+)	Signal sequence	HSV•Tag/His•Tag	SP
pET-21a-d(+)	T7•Tag	His•Tag	none
pET-23a-d(+)	T7•Tag	His•Tag	none
pET-24a-d(+)	T7•Tag	His•Tag	none
pET-28a-c(+)	His•Tag/T7•Tag	His•Tag	Tb
pET-29a-c(+)	S•Tag	His•Tag	Tb
pET-30a-c(+)	His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb, Ek
pET-30 Ek/LIC	His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb, Ek
pET-30 Xa/LIC	His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb, Xa
pET-32a-c(+)	Trx•Tag™/His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb, Ek
pET-32 Xa/LIC	Trx•Tag/His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb, Xa
pET-39b(+)	DsbA•Tag™/His•Tag/S•Tag	His•Tag	SP, Tb, Ek
pET-40b(+)	DsbC•Tag™/His•Tag/S•Tag	His•Tag	SP, Tb, Ek
pET-41a-c(+)	GST•Tag™/His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb, Ek
pET-42a-c(+)	GST•Tag/His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb, Xa
pET-43.1a-c(+)	Nus•Tag™/His•Tag/S•Tag	HSV•Tag/His•Tag	Tb, Ek
pET-43.1 Ek/LIC	Nus•Tag/His•Tag/S•Tag	HSV•Tag/His•Tag	Tb, Ek
pET-44a-c(+)	His•Tag/Nus•Tag/His•Tag/S•Tag	HSV•Tag/His•Tag	Tb, Ek
pET-45b(+)	His•Tag	S•Tag	Ek
pET-47b(+)	His•Tag	S•Tag	3C, Tb
pET-48b(+)	Trx•Tag/His•Tag	S•Tag	3C, Tb
pET-49b(+)	GST•Tag/His•Tag	S•Tag	3C, Tb
pET-50b(+)	His•Tag/Nus•Tag/His•Tag	S•Tag	3C, Tb
pET-51b(+)	Strep•Tag™	His•Tag	Ek
pET-52b(+)	Strep•Tag	His•Tag	3C, Tb
pET-52 3C/LIC	Strep•Tag	His•Tag	3C, Tb
pETcoco1™-1	His•Tag/S•Tag	HSV•Tag	none
pETcoco1™-2	His•Tag/S•Tag	HSV•Tag	none

Recommended antibiotic concentrations are 50 µg/ml carbenicillin (or ampicillin) or 30 µg/ml kanamycin. Amp: ampicillin; Kan: kanamycin; Cam: chloramphenicol; Tb: thrombin; Ek: enterokinase; 3C: HRV 3C; Xa: factor Xa; SP: signal peptidase

カラム上でも分解できます



HRV 3C protease で pET-47b:GST-enolase を精製したときの SDS-PAGE

バルクのご要望はお気軽にご相談ください

- お手ごろな価格でご購入いただけます。
- ロット差のない製品をご使用いただけます。
- 実験計画に応じたパッケージサイズを作れます。
- 複数の発注回数を減らせます。

お問い合わせは、弊社製品取扱販売店または弊社までご連絡ください。

# Proteases for Fusion Tag Removal

## 融合タグ切断酵素のセレクションガイド

Novagen® pET システムでお使いいただいているタグ切断用プロテアーゼです。

### 融合タグ除去用プロテアーゼ取扱一覧

酵素名	切断サイト	サイズ	特異性	アフィニティーレジンによる除去	由来 (Origin)	至適 Buffer (1X) *	至適 反応条件**
<b>Thrombin, Restriction Grade***</b> (69671-3)	LeuValProArg ↓ GlySer	33 kDa (B chain) (A chain, 6 kDa)	Moderately High				
<ul style="list-style-type: none"> <li>反応条件: 1 mg 切断コントロールタンパク質に対して、1Unit トロンピン</li> <li>反応液: 1×トロンピン Cleavage Buffer</li> <li>反応時間: 16時間/20°C</li> </ul>				Human plasma that tests negative for HBsAg and HIV antibodies (human)		150 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, 2.5 mM CaCl <sub>2</sub> , pH 8.4	
<b>Biotinylated Thrombin****</b> (69672-3)	LeuValProArg ↓ GlySer	35 kDa (B chain) (A chain, 6 kDa)	Moderately High	Biotin / Streptavidin Agarose >99% efficiency			
<ul style="list-style-type: none"> <li>反応条件: 1 mg 切断コントロールタンパク質に対して、1Unit ビオチン化トロンピン</li> <li>反応液: 1×rEK Cleavage/Capture Buffer</li> <li>反応時間: 16時間/20°C</li> </ul>							Room temperature (20-23°C) 16 hr
<b>Recombinant Enterokinase (rEK)</b> (69066-3)	AspAspAspAspLys ↓	26 kDa (calculated), 33 kDa (apparent)	High	EKapture™ Agarose >99% efficiency	<i>E. coli</i> expression host strain (bovine)	50 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, 2 mM CaCl <sub>2</sub> , pH 7.4	
<ul style="list-style-type: none"> <li>反応条件: 50 µg 切断コントロールタンパク質に対して、1Unit rEK</li> <li>反応液: 1×rEK Cleavage/Capture Buffer</li> <li>反応時間: 16時間/室温</li> </ul>							
<b>Factor Xa***</b> (69036-3)	IleGluGlyArg ↓	2 subunits 34, 29 kDa	Moderate	Xarrest™ Agarose >95% efficiency	Bovine plasma (bovine)	100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 5 mM CaCl <sub>2</sub> , pH 8.0	
<ul style="list-style-type: none"> <li>反応条件: 50 µg 切断コントロールタンパク質に対して、1Unit Factor Xa</li> <li>反応液: 1×Factor Xa Cleavage/Capture Buffer</li> <li>反応時間: 16時間/室温</li> </ul>							
<b>HRV 3C Protease</b> (71493-3)	LeuGluValLeuPheGln ↓ GlyPro	22 kDa	Very High	His-Tag® /Ni-NTA His-Bind® Resin >95% efficiency	<i>E. coli</i> expression host strain (human rhinovirus)	150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5	4°C 16 h
<ul style="list-style-type: none"> <li>反応条件: 100 µg HRV 3C切断コントロールタンパク質に対して、1Unit HRV 3C</li> <li>反応液: 1×HRV 3Cプロテアーゼ Cleavage/Capture Buffer</li> <li>反応時間: 16時間/4°C</li> </ul>							

\* 10X Cleavage or Cleavage/Capture Buffers included with all protease kits.

\*\* In general, for all proteases, cleavage reaction temperature range is 4–37°C and incubation time range is 2–16 h.

\*\*\* For a review comparing thrombin and Factor Xa cleavage reaction methods, see: Jenny, R.J, Mann, K.G., and Lundblad, R. L. 2003. *Prot. Exp. Purif.* **31**, 1–11.

プロテアーゼ	ユニット数	製品名	包装単位	カタログ番号
Thrombin, Restriction Grade	0.05 U	Thrombin, Restriction Grade	50 unit	69671-3
		Biotinylated Thrombin	50 unit	69672-3
Biotinylated Thrombin	0.05 U	Thrombin Cleavage Capture Kit	1 kit	69022-3
		Recombinant Enterokinase	50 unit	69066-3
rEK	1 U	Enterokinase Cleavage Capture Kit	1 kit	69067-3
		Factor Xa, Restriction Grade, Bovine Plasma	400 unit	69036-3
Factor Xa	1 U	Factor Xa Cleavage Capture Kit	1 kit	69037-3
		HRV 3C Protease	500 unit	71493-3

各プロテアーゼの50 µgコントロールタンパク質を切断するために必要なユニット数

プロテアーゼ活性に影響を与える界面活性剤、変性剤、還元剤などの情報もご紹介します。お気軽にお問い合わせください。



本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのでご了承ください。記載価格に消費税は含まれておりません。記載内容は2019年9月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2019 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

## メルク株式会社

ライフサイエンス リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら [www.merckmillipore.com/bio](http://www.merckmillipore.com/bio)

E-mail: [jpts@merckgroup.com](mailto:jpts@merckgroup.com)

Tel: 03-4531-1140 Fax: 03-5434-4859