

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

【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	序号	组份名称及包装规格
EKM0101 B-50T	1	TEV 酶标准品 (1U/μl): 4×50μl (红盖)
	2	底物液: 4×100μl (绿盖)
	3	5×TEV buffer: 1×5ml (半透明瓶)
	4	稀释液: 1×5ml (半透明瓶)
	5	终止液: 1×5ml (半透明瓶)
	6	溶液 A: 1×8ml (半透明瓶)
	7	溶液 B: 1×5ml (棕色瓶)
	8	黑色 96 孔反应板: 1 块
	9	稀释管: 2×8 排管

【产品检测原理和用途】

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。本品可用于检测样本中 TEV 蛋白酶活性或 TEV 酶残留量。

【产品特点和优势】

1. 本试剂盒简单、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 酶活性的线性检测范围为 0.1~1.0 U/μl;
3. 本品具有稳定、高荧光、低背景特征。

【使用说明】

请事先准备好无菌离心管、恒温培养箱或水浴锅、微量移液器、荧光酶标仪等。

1. 标准品溶液制备: 取一支 TEV 酶标准品, 2000~3000rpm 离心 30s, 将液体集中于管底, 首孔不加稀释液, 直接取加 10 μl 标准品; 后续取 4 支稀释管, 每管加入 25μl 的稀释液后, 再取 25μl 的标准品 (1U/μl) 加入首支稀释管中、用移液器反复吹吸混合 5 次后, 取 25 μl 加入下一管, 依次做 4 次倍比稀释; 最后制成 1.0、0.5、0.25、0.125 和 0.0625 U/μl 的 5 个不同浓度标准品溶液。

2. 样品准备: 将待测样品中 TEV 酶的活性浓度调整到 0.1~1.0 U/μl。

3. 底物溶液准备: 取一支底物液, 轻微离心收液至管底, 加入 300μl 稀释液, 混匀, 离心备用。

4. 取黑色 96 孔反应板, 各孔做好标记, 并按下表配制反应液 (每个检测样品设 2 个复孔):

组份	标准曲线	样品检测	空白对照
各标准品液	10μl	/	/
样品液	/	10μl	/
稀释液	/	/	10μl
5×TEV buffer	10μl	10μl	10μl
底物溶液	30μl	30μl	30μl
总体积/孔	50μl	50μl	50μl

5. 检测流程:

- (1) 将微孔板置于 30°C 恒温孵育 30min;
- (2) 孵育完成后, 加入终止液, 50μl/孔, 混匀;
- (3) 加入 100μl 溶液 A, 混匀; 再加 50μl 溶液 B, 混匀, 静置 2min 后进行荧光酶标仪检测;
- (4) 荧光酶标仪检测参数为: 激发波长 386nm, 发射波长 480nm。

6. 数据分析:

计算各孔净荧光值 (检测值减去空白对照) 和 各组平均净荧光值, 绘制标准曲线。根据标准曲线计算获得样品活性值。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅供研究使用。
2. 打开启用后，放至 2-8℃，建议 1-2 周内使用完。
3. 低温可致溶液 A 有结晶析出，用前请温浴溶解。
4. 溶液 B 每次加取后要迅速旋盖密封，防止污染。

【储存条件和有效期】

2-8℃ 储存，有效期 12 个月。

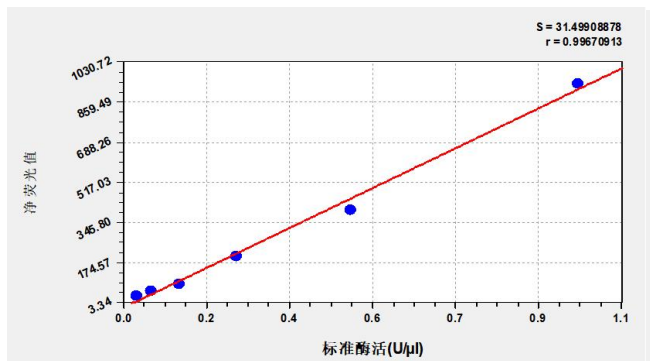
【应用示例】

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	
1.0000	1045.0	1045.2	940.1
0.5000	502.8	508.4	400.6
0.2500	310.1	307.5	203.8
0.1250	192.7	189.5	86.1
0.0625	160.1	163.6	56.8
0.03125	139.0	137.8	33.9
空白对照	105.1	105.0	/

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	320.6	319.4	214.9
样品 2	192.5	194.0	88.2
样品 3	147.7	146.1	41.8
样品 4	131.9	132.7	27.2

2. 绘制标准曲线，拟合标准方程式



标准方程式: $y = 934.55x - 19.87$

3. 根据标准方程，计算样品活性浓度

编号	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
活性 (U/μl)	0.25	0.12	0.07	0.05

【技术支持服务】

您若有疑问或反馈，请联系：

Tel: [021-50272981*6217](tel:021-50272981*6217) 或 Email: market@seebio.cn

官方微信



技术服务

