



# pSmart I 载体

## 1. 产品介绍

酿酒酵母 SUMO 家族 SMT3 蛋白位于第四条染色体上，是类泛素蛋白，可以通过 SUMO 连接酶连接到目标蛋白的赖氨酸侧链上，调节了细胞的染色体分节，DNA 复制等重要的生理过程。但对于做大肠杆菌原核表达的人来说，它促进其它蛋白可溶性表达的能力，才是更重要的性质。SUMO 蛋白本身分子量较小，只有一百多个氨基酸残基，比经典的 GST 蛋白小了一半以上，融合表达时不会占用宿主太多资源。更完美的是：它可以被 ULP 蛋白酶识别空间构象，特异性的从融合蛋白上切除。在此之前只有泛素 (Ubiquitin) 融合表达系统有类似的性质。但是 SUMO 的促溶解性能远远高于 Ub，当 SUMO 融合表达体系流行起来的时候，已经很少有人记得曾经的 Ub 融合表达系统了。和传统的 GST, MBP, TRX 等经典的融合表达载体相比，SUMO 的确更有效。pSmart-I 载体是在 pET-28a 载体的基础上改造而来，主要改造是将编码 SUMO 蛋白的核酸序列接入到 pET-28a 载体中，保留了原载体的整体框架以及多克隆酶切位点。

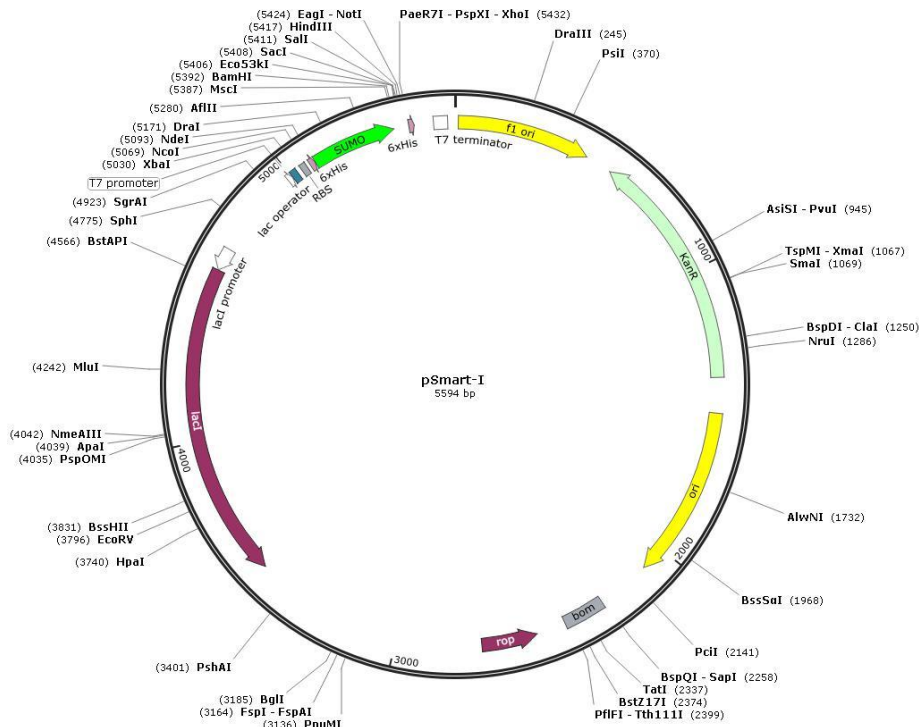


图 1 载体图谱

## 2. 多克隆位点

N-terminal-his6

ATGGGTCACCATCACCATCACCATATGTCGGACTCAGAAGTCAATCAAGAAGCTAAGCCAGAGGTCAAGCCAGAAGTCAAGCCTGAG  
ACTCACATCAATTTAAAGGTGTCGGATGGATCTTCAGAGATCTTCTTCAAGATCAAAAAGACCACTCCTTTAAGAAGGCTGATGGAAG  
CGTTCGCTAAAAGACAGGGTAAGGAAATGGACTCCTTAAGATTCTTGACGACGGTATTAGAATTCAAGCTGATCAGACCCCTGAAGA  
TTTGGACATGGAGGATAACGATATTATTGAGGCTCACAGAGAACAGATTGGTGGC↓CAAGGATCCGAATTCGAGCTCCGTCGACAAG  
CTTGCGGCCCGACTCGAGCACCACCACCACCACCCTGA multi-clonal sites (BamHI, EcoRI, SacI, Sall, HindIII, NotI, XhoI,)

C-terminal-his6

多克隆位点中的 EcoRI 请不要使用，因为 SUMO 序列中也有一个 EcoRI 序列，并不是单一酶切位点。还要注意接入蛋白的读码框和 SUMO 的读码框需要重合，上游酶切位点选择 BamHI, SacI 均可。

## 3. 蛋白酶切位点

### 3.1 蛋白酶切位点

MGHHHHHHMSDSEVNQEAKPEVKPEVKPETHINLKVSDGSSEIFFKIKKTTPLRRLMEAFKQRQKEMDSLRFlyDgIRIQADQTPEDLD  
MEDNDIIEAHREQGGIQQS

N-端的 His6-tag 可以用于镍柱纯化，C-端 His6-tag 可以选择使用，如果不需要，在其前面加入终止密码子即可。融合蛋白可以被 SUMO



蛋白酶切除，箭头位置是蛋白酶的最终切点，如果使用 BamHI 接入核酸序列，蛋白酶切除标签以后，目的蛋白 N-端将多出 Gln-Gly-Ser 三个冗余氨基酸残基。如果希望获得完全不带冗余氨基酸残基的目的蛋白，请使用无缝克隆技术，将蛋白序列直接接到 SUMO 序列的下游。注意：酶切位点下游第一个氨基酸如果是脯氨酸（Pro），则很难切开！其它残基效率有差异，但是均可以切开。具体信息请参考我公司 SUMO 蛋白酶产品说明书。

### 3.2 SUMO 蛋白的一些性质：

SUMO 蛋白的实际分子量只有 13kDa 左右，但是其表观分子量接近 20 kDa。因此，融合蛋白表达条带通常在 SDS-PAGE 上会表现得大一些，这是正常现象。SUMO 蛋白较为耐热，80℃加热 30 min，并不能使其变性沉淀。

## 4. 测序引物

使用任何 pET-28a 载体的通用引物均可以，但这里推荐距离目标蛋白较远的测序引物 T7-Pro 或者 T7-Ter，获得的测序信息更加可靠。

## 5. 完整的载体序列

绿色标记的是 SUMO 的核酸序列以及在载体中的位置。

```
TGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAG
CGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGC
TCCCTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGCCATCGC
CCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCAAAACCTGGAACAACACTCAACCC
TATCTCGGTCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTGCCGATTCGGCCTATTGGTAAAAAATGAGCTGATTAACAAAAATTTAACGCG
AATTTAAACAAAATTAACGTTTACAATTTCAAGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTTCTAAATAC
ATTCAAATATGTATCCGCTCATGAATTAATCTTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCAAT
ACCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCT
GCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATAACCTATTAATTTCCCTCGTCAAAAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGAC
GACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCA
CTCGCATCAACCAACCGTTATTCATTCGTGATTGCGCCTGAGCGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTAAAAGGACAATTACAAACAG
GAATCGAATGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATTTTTACCTGAATCAGGATATTCTTCAATACCTGGAATGC
TGTTTTCCCGGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGAGGCATAAATTC
CGTCAGCCAGTTTGTCTGACCATCTCATCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACCTTGCGGCATCG
GGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTGCGACCTGATTGCCCGACATTATCGCGAGCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTG
GAATTTAATCGCGGCCCTAGAGCAAGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGATTAATGTTTATGTAAGCAGACAGTTT
TATTGTTTCATGACCAAAATCCCTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGAT
CCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAACAAAAAACCCAGCTACCAGCGGTGGTTTGTTCGCGGATCAAGAGCTACCA
ACTTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTTCAGCAGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCA
AGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCG
GGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGC
GAACGACCTACACCGAAGTGAATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCGAAGGGGAGAAAGGCGGACAGGAT
CCGGTAAGCGGCGAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCAGGAGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGT
TTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTT
TTACGGTTCCCTGGCCTTTTGTGCTGGCCTTTTGTCTCACATGTTCTTTCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTT
TGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAAGTGAAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCTGATGCG
GTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAG
CCAGTATACACTCCGCTATCGCTACGTGACTGGGTGCTGCGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGG
CTTGTCTGCTCCCGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGTTTTACCGTCTATCACCG
AAACGCGGAGGAGCTGCGGTAAGCTCATCAGCGTGGTCTGTAAGCGATTACAGATGTCTGCCTGTTTCATCCGCGTCCAGCTC
GTTGAGTTTTCTCCAGAAGCGTTAATGTCTGGCTTCTGATAAAGCGGGCCATGTTAAGGGCGTTTTTTCTGTTTGGTCACTGATGCC
TCCGTGTAAGGGGATTTCTGTTTCATGGGGTAATGATACCGATGAAACGAGAGAGGATGCTCACGATAACGGTTACTGATGATGAA
CATGCCCGGTTACTGGAACGTTGTGAGGGTAAACAACCTGGCGGTATGGATGCGGCGGGACAGAGAAAAATCACTCAGGGTCAATG
CCAGCGCTTCGTTAATACAGATGTAGGTGTTCCACAGGGTAGCCAGCAGCATCCTGCGATGCAGATCCGGAACATAATGGTGCAGGG
CGCTGACTTCCGCGTTTTCCAGACTTTACGAAACACGGAACCGAAGACCATTGTTGTTGCTCAGGTGCGAGACGTTTTGCGAGCA
GCAGTCGCTTACGTTTCGCTCGCGTATCGGTGATTCATTCTGCTAACAGTAAGGCAACCCCGCCAGCCTAGCCGGGTCTCAACG
```



ACAGGAGCAGATCATGCGCACCCGTGGGGCCGCCATGCCGGCGATAATGGCCTGCTTCTCGCCGAAACGTTTGGTGCCGGGACC  
 AGTGACGAAGGCTTGAGCGAGGGCGTGCAAGATTCCGAATACCGCAAGCGACAGGCCGATCATCGTCGCGCTCCAGCGAAAGCGG  
 TCCTCGCCGAAAATGACCCAGAGCGCTGCCGGCACCTGTCTACGAGTTGCATGATAAAGAAGACAGTCATAAGTGCGGGCAGCAT  
 AGTCATGCCCGCGCCACCAGGAAGGAGCTGACTGGGTTGAAGGCTCTCAAGGGCATCGGTGAGATCCCGGTGCCTAATGAGTG  
 AGCTAACTTACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAA  
 CGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTCGCTATTGGGCGCCAGGGTGGTTTTTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTC  
 ACCGCCTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGCCCCAGCAGGGCGAAAATCCTGTTTGATGGTGGTTAACG  
 GCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCTATCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGG  
 CGCGCATTGCGCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATTGAGCATTGATGGTTTGT  
 GAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCTTCCCGTTCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCA  
 GACGCAGACGCGCCGAGACAGAATTAATGGGCCCCGCTAACAGCGGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCC  
 CAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAACTGTTGATGGGTGCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAGTG  
 CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTG  
 CACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGCGCTTCTGTTCTACCATCGACACCACGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCAGATTAA  
 TCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTT  
 GTTGTCACGCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGGCTTTTCGAGAAAACGTGGCTGGCC  
 TGTTTACCACGCGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTACATTACCACC  
 CTGAATTGACTCTTCCGGGCGCTATCATGCCATACCGCGAAAGTTTTGCGCCATTCGATGGTGTCCGGGATCTCGACGCTCTCC  
 CTTATGCGACTCCTGCATTAGGAAGCAGCCCAGTAGTAGTTGAGGCCGTTGAGCACCGCCCGCAAGGAATGGTGCATGCAAGG  
 AGATGGCGCCCAACAGTCCCCCGGCCACGGGGCTGCCACCATACCCACGCCGAAACAAGCGCTCATGAGCCCGAAGTGGCGAG  
 CCCGATCTTCCCCATCGGTGATGTCGGCGATATAGGCGCCAGCAACCCGACCTGTGGCGCCGGTGTGCGGGCCACGATGCGTCC  
 GCGGTAGAGGATCGAGATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTTGAGCGGATAACAATTTCCCTCTAGAAA  
 TAATTTGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACCATGGGTACCATCACCATCACCATATGTCGGACTCAGAAGTCAATCAAGAAGCTAA  
 GCCAGAGGTCAAGCCAGAAGTCAAGCCTGAGACTCACATCAATTTAAAGGTGTCGATGGATCTTCAGAGATCTTCTTCAAGATCAA  
 AAAGACCACTCCTTTAAGAAGGCTGATGGAAGCGTTCGCTAAAAGACAGGGTAAGGAAATGACTCCTTAAGATTCTGTACGACGG  
 TATTAGAATTCAGCTGATCAGACCCCTGAAGATTTGGACATGGAGGATAACGATATTATTGAGGCTCACAGAGAACAGATTGGTGGC  
 CAAGGATCCGAATTCGAGCTCCGTCGACAAGCTTTCGGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCAGATCCGGCTGCTAAC  
 AAAGCCCAGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAACGGGTCTTGAG  
 GGGTTTTTGTGTAAGGAGGAAGTATATCCGGAT

## 6. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
pSmart 1	SLP023	100 ng/μl, 10 μl