



pSmart III 载体

1. 产品介绍

大肠杆菌的麦芽糖结合蛋白 (MBP) 是经典的融合蛋白标签，广泛使用。MBP 具有一定的伴侣蛋白作用，可以促进融合蛋白的折叠。同时，MBP 自身拥有较好的水溶性以及较高的表达量。更重要的是：MBP 可以和麦芽糖结合，通过 Dextran 亲和介质，一步亲和纯化即可以获得很高的纯度，麦芽糖底物竞争洗脱的条件也十分温和，有利于保持目标蛋白的活性。

MBP 本身的分子量超过 40kDa，因此相对来说，会占用宿主较多的资源，目标蛋白的最终产量不会太高。同时由于未知的原因，MBP 融合蛋白在大肠杆菌中表达的时候就容易降解。但由于其使用的历史悠久，有专门的亲和填料，也有许多成功的案例。因此，我们构建了 pSmart-III 载体系统，MBP 标签蛋白序列被克隆到 pET-28a 载体中，增加了 N-端 His6-tag 用于纯化，保留了原载体的整体框架以及多克隆酶切位点，供大家使用。

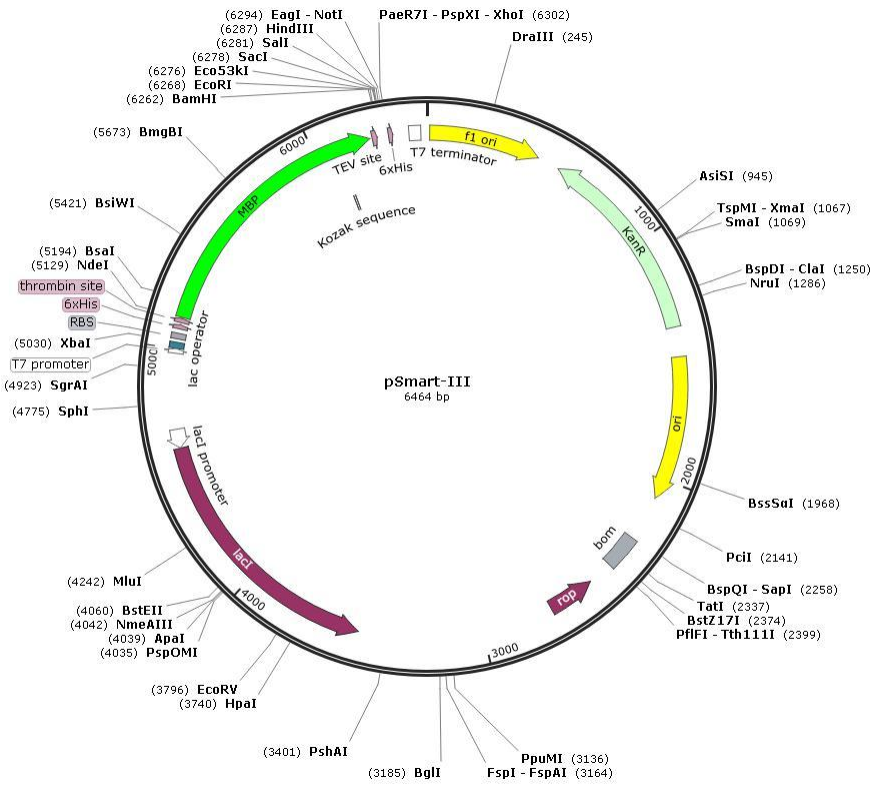


图 1 载体图谱

2. 多克隆位点

N-terminal-his6

ATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGTGCCGCGCGGCAGCCATATGAAAATCGAAGAAGGTAACTGGT
AATCTGGATTAACGCGGATAAAGGCTATAACGGTCTCGCTGAAGTCGGTAAGAAATTCGAGAAAGATACCGGAATTAAGTCACCGTT
GAGCATCCGATAAACTGGAAGAGAAATCCACAGGTTGCGGCAACTGGCGATGGCCCTGACATTATCTTCTGGGCACACGACCG
CTTTGGTGGCTACGCTCAATCTGGCCTGTTGGCTGAAATCACCCCGGACAAAGCGTTCCAGGACAAGCTGTATCCGTTTACCTGGGA
TGCCGTACGTTACAACGGCAAGCTGATTGCTTACCCGATCGCTGTTGAAGCGTTATCGCTGATTATAACAAAGATCTGCTGCCGAAC
CCGCCAAAACCTGGGAAGAGATCCCGGCGCTGGATAAAGAACTGAAAGCGAAAGGTAAGAGCGCGCTGATGTTCAACCTGCAAG
AACCGTACTTCACTGGCCGCTGATTGCTGCTGACGGGGTTATGCGTTCAAGTATGAAAACGGCAAGTACGACATTAAGACGTTGG
GCGTGGATAACGCTGGCGCGAAAGCGGGTCTGACCTTCTGGTTGACCTGATTAATAACAAACACATGAATGCAGACACCGATTACT
CCATCGCAGAAGCTGCCTTAATAAAGGCGAAACAGCGATGACCATCAACGGCCCGTGGGCATGGTCCAACATCGACACCAGCAAA
GTGAATTATGGTGTAAACGGTACTGCCGACCTTCAAGGGTCAACCATCCAAACCGTTTGGTGGCGTGCTGAGCGCAGGTATTAACGCC
GCCAGTCCGAACAAAGAGCTGGCAAAAGAGTTCCTCGAAAATCTGCTGACTGATGAAGTCTGGAAGCGGTTAATAAAGACAAA
CCGCTGGGTGCCGTAGCGCTGAAGTCTTACGAGGAAGAGTTGGCGAAAGATCCACGTATTGCCGCCACCATGAAAACGCCCAGA
AAGGTGAAATCATGCCGAACATCCCGCAGATGTCCGCTTCTGGTATGCCGTGCGTACTGCGGTGATCAACGCCGCCAGCGGTCTGT



CAGACTGTCGATGAAGCCCTGAAAGACGCGCAGACTCGTACTAAGGAAAACCTGTATTTTCAGGGAJGGATCCGAATTCGAGCTCCG
 TCGACAAGCTTGCGGCGCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCTGA multi-clonal sites (BamHI, EcoRI, SacI, SalI, HindIII,
 NotI, XhoI) C-terminal-his6

注意接入蛋白的读码框需要和 MBP 的密码框重合，上游酶切位点选择 BamHI, EcoRI, SacI 均可。

3. 蛋白酶切位点

MGSSHHHHHSSGLVPRGSHMKIEEGKLIWINGDKGYNGLAEVGGKFEKDTGIKVTVEHPDKLEEKFPQVAATGDGPDIIFWAHDRFGG
 YAQSGLLAEITPDKAFQDKLYPFTWDVRYNGKLIAYPIAVEALSILYNKDLLPNPPKTWEEIPALDKELKAKGKSALMFNLQEPYFTWPLIAA
 DGGYAFKYENGYDIKDVGVNAGAKAGLTFVLVLIKNKHMNADTDYSIAEAFNKGGETAMTINGPWAWSNIDTSKVNYGVTVLPTFKGQ
 PSKPFVGLSAGINAASPNKELAKEFLENYLLTDEGLEAVNKDKPLGAVALKSYYEELAKDPRIAATMENAQKGEIMPNIQMSAFWYAVRT
 AVINAASGRQTVDEALKDAQTRTKENLYFQJGGSE

N-端的 His 6-tag 可以用于镍柱纯化，C-端 His 6-tag 也可以选择使用，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 TEV 蛋白酶切除，识别序列是：Glu-Asn-Leu-Tyr-Phe-Gln↓Gly 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 Gly-Gly-Ser 三个冗余氨基酸残基。注意：标准的蛋白酶切位点下游第一个氨基酸是 Gly，才能保证切开。蛋白酶的具体信息请参考 TEV 蛋白酶产品说明书。

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 MBP 的核酸序列以及在载体中的位置。

TGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAG
 CGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGC
 TCCCTTAGGGTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGCCATCGC
 CCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTCCAACTGGAACAACACTCAACCC
 TATCTCGGTCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTGCCGATTTCCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTAACGCG
 AATTTAAACAAAATTAACGTTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTTCTAAATAC
 ATTCAAATATGTATCCGCTCATGAATTAATCTTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCAAT
 ACCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCT
 GCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACCTATTAATTTCCCTCGTCAAAAATAAGGTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGAC
 GACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTATGCATTTCTTCCAGACTTGTCAACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCA
 CTCGCATCAACCAACCGTTATTCATTCGTGATTGCGCCTGAGCGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTAAAGGACAATTACAAACAG
 GAATCGAATGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATTTTTACCTGAATCAGGATATTCTTAATACCTGGAATGC
 TGTTTTCCCGGGGATCGCAGTGGTGAAGTACCATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTGGGAAGAGGCATAAATTC
 CGTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACCTTGCGCATCG
 GGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCGACATTATCGCGAGCCATTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTG
 GAATTTAATCGCGGCTAGAGCAAGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGATTACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTT
 TATTGTTTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGAT
 CCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGATCAAGAGCTACCA
 ACTTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCCAGCAGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCA
 AGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCG
 GGTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGC
 GAACGACCTACACCGAAGTGAATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTAT
 CCGGTAAGCGGCAGGGTCCGAACAGGAGAGCGCAGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCTGATCTTTATAGTCTGTCGGGT
 TTCCGACCTCTGACTTGAGCGTGCATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTT
 TTACGGTTCTGGCCTTTTGTGGCCTTTTGTGCTCACATGTTCTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTT
 TGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAAGTGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCTGATGCG
 GTATTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAG
 CCAGTATACACTCCGCTATCGCTACGTGACTGGGTGCTGCGCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGG



CTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTACCCGTCATCACCG
 AAACGCGCGAGGCAGCTGCGGTAAAGCTCATCAGCGTGGTCTGAAAGCGATTACAGATGTCTGCCTGTTTCATCCGCGTCCAGCTC
 GTTGAGTTTTCTCCAGAAGCGTTAATGTCTGGCTTCTGATAAAGCGGGCCATGTTAAGGGCGGTTTTCTGTTTGGTCACTGATGCC
 TCCGTGTAAGGGGATTTCTGTTTCATGGGGTAATGATACCGATGAAACGAGAGAGGATGCTCACGATACGGTTACTGATGATGAA
 CATGCCCGTTACTGGAACGTTGTGAGGGTAAACAACCTGGCGGTATGGATGCGGCGGGACCAGAGAAAAATCACTCAGGGTCAATG
 CCAGCGCTTCGTTAATACAGATGTAGGTGTTCCACAGGGTAGCCAGCAGCATCTGCGATGCAGATCCGGAACATAATGGTGCAGGG
 CGTGACTTCCGCGTTTTCCAGACTTACGAAACACGGAACCGAAGACCATTGTTGTTGCTCAGGTCGCAGACGTTTTGCAGCA
 GCAGTCGCTTACGTTGCTCGCTATCGGTGATTCATTCTGCTAACAGTAAGGCAACCCCGCCAGCCTAGCCGGTCTCAACG
 ACAGGAGCACGATCATGCGCACCCGTGGGGCCGCCATGCCGGCGATAATGGCTGCTTCTCGCCGAAACGTTTGGTGGCGGGACC
 AGTGACGAAGGCTTGAGCGAGGGCGTGCAAGATTCCGAATACCGCAAGCGACAGGCGGATCATCGTCGCGCTCCAGCGAAAGCGG
 TCCTCGCCGAAATGACCCAGAGCGCTGCCGGCACCTGTCTACGAGTTGCATGATAAAGAAGACAGTCATAAGTGCGGCGACGAT
 AGTCATGCCCGCGCCACCAGGAGCTGACTGGGTTGAAGGCTCTCAAGGGCATCGTTCGAGATCCCGGTGCCTAATGAGTG
 AGCTAACTTACATAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTCCAGTCGGGAAACCTGTGCTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAA
 CGCGCGGGGAGAGGGCGTTTTGCGTATTGGGCGCCAGGGTGGTTTTCTTTCCAGTGCAGCGGGCAACAGCTGATTGCCCTTC
 ACCGCTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTTGCCCCAGCAGGCGAAACCTGTTTGGTGGTAAACG
 GCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCTATCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGG
 CGCGCATTGCGCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATTACGATTTGCATGGTTTGT
 GAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCTTCCCGTTCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATTTATGCCAGCCAGCCA
 GACGCAGACGCGCGGAGACAGAATAATGGGCCCGCTAACAGCGGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCC
 CAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAAATAACGCCGGAACATTAGTG
 CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTATCCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTG
 CACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGCGCTTCTGTTTACCATCGACACCACCGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAA
 TCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTT
 GTTGTTGCCACGCGGTTGGGAATGTAATCAGCTCCGCCATCGCCGTTCCACTTTTTCCCGGTTTTGCGAGAAACGTGGCTGGCC
 TGGTTACCACGCGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTCACATTACCACC
 CTGAATTGACTCTTCCGGGCGCTATCATGCCATACCGCGAAAGGTTTTGCGCCATTGATGGTGTCCGGGATCTCGACGCTCTCC
 CTTATGCGACTCCTGCATTAGGAAGCAGCCCAGTAGTAGTTGAGGCCGTTGAGCACCGCCGCGCAAGGAATGGTGCATGCAAGG
 AGATGGCGCCCAACAGTCCCCCGCCACGGGGCCTGCCACCATACCCACGCCGAAACAAGCGCTCATGAGCCCGAAGTGGCGAG
 CCCGATCTTCCCATCGGTGATGTCGGCGATATAGGCGCCAGCAACCGCACCTGTGGCGCCGGTATGCCGGCCAGATGCGTCC
 GCGTAGAGGATCGAGATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAAA
 TAATTTGTTAACTTTAAGAAGGAGATATAACATGGGCAGCAGCCATCATCATCACAGCAGCGGCTGGTGCCGCGCGGCA
 GCCATATGAAAATCGAAGAAGGTAAGTAACTGGTAATCTGGATTAACGGCGATAAAGGCTATAACGGTCTCGCTGAAGTCGGTAAGAAAT
 CGAGAAAAGATACCGGAATTAAGTCACCGTTGAGCATCCGGATAAAGTGAAGAGAAATCCCACAGTTGCGGCAACTGGCGATG
 GCCCTGACATTATCTTCTGGGCACACGACCGCTTGGTGGCTACGCTCAATCTGGCCTGTTGGCTGAAATCACCCCGGACAAAGCG
 TTCAGGACAAGCTGTATCCGTTTACCTGGGATGCCGTACGTTACAACGGCAAGCTGATTGCTTACCCGATCGCTGTTGAAGCGTTAT
 CGCTGATTTATAACAAAGATCTGCTGCCGAACCCGCCAAAAACCTGGGAAGAGATCCCGGCGCTGGATAAAGAACTGAAAGCGAAA
 GGTAAGAGCGCGCTGATGTTCAACCTGCAAGAACCGTACTTCACCTGGCCGCTGATTGCTGCTGACGGGGGTTATGCGTTCAAGTA
 TGAAAACGGCAAGTACGACATTAAGACGTTGGGCGTGGATAACGCTGGCGCGAAAGCGGGTCTGACCTTCTGTTGACCTGATTA
 AAAACAAACACATGAATGCAGACACCGATTACTCCATCGCAGAAGCTGCCTTAATAAAGGCGAAACAGCGATGACCATCAACGGCC
 CGTGGGCATGGTCCAACATCGACACCAGCAAAGTGAATTATGGTGTAAACGGTACTGCCGACCTTCAAGGGTCAACCATCAAACCGT
 TCGTTGGCGTGTGAGCGCAGGTATAACGCCGCCAGTCCGAACAAAGAGCTGGCAAAAGAGTTCCTCGAAAACCTATCTGCTGACT
 GATGAAGGTCTGGAAGCGGTTAATAAAGACAAACCGCTGGGTGCCGTAGCGCTGAAGTCTTACGAGGAAGAGTTGGCGAAAGATCC
 ACGTATTGCCGCCACCATGAAAACGCCAGAAAAGGTGAAATCATGCCAACATCCCGCAGATGTCCGCTTCTGGTATGCCGTGC
 GACTGCGGTGATCAACGCCGCCAGCGGTGCTCAGACTGTGATGAAGCCCTGAAAGACGCGCAGACTCGTACTAAGGAAAACCT
 GTATTTTCAGGGAAGGATCCGAATTCGAGCTCCGTCGACAAGCTTGGCGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCCTGAGATCCG
 GCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACG
 GGTCTTGAAGGGTTTTTCTGTAAGGAGGAACTATATCCGGAT

6. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
pSmart III	SLP025	100 ng/μl, 10 μl