



pSmart IV 载体

1. 产品介绍

早期筛选大肠杆菌融合蛋白表达体系主要靠个人经验和感觉，有人做过 Ubiquitin、EGFP、DsbA 等融合表达体系。但是由于这些体系的明显缺陷，最终并没有流行起来。随着经验积累，有研究者提出了一个 Wilkinson-Harrison 溶解性模型，通过这一经验公式，可以计算某一个蛋白在大肠杆菌中可溶表达的概率。NusA 就是这样被挑选出来作为融合表达标签蛋白的。

大肠杆菌的 NusA 蛋白是一个抗转录终止因子，约 55kDa 大小。自身水溶性很好，同时又是大肠杆菌的内源蛋白，拥有极高的表达水平。有人使用 NusA 融合表达体系，测试了人的 γ -干扰素，白介素 IL-3 等蛋白在大肠杆菌中的表达，都获得了可溶产物。我们使用 NusA 也实现了 RNase 抑制剂的可溶表达。另外 NusA 也可能对于稳定转录有些帮助。因此，我们构建了 pSmart-IV 载体系统，NusA 标签蛋白序列被克隆到到 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。使用时请注意，NusA 本身太大了，即使表达量较高，最终获得的目的蛋白的水平也不如 pSmart-I 载体。

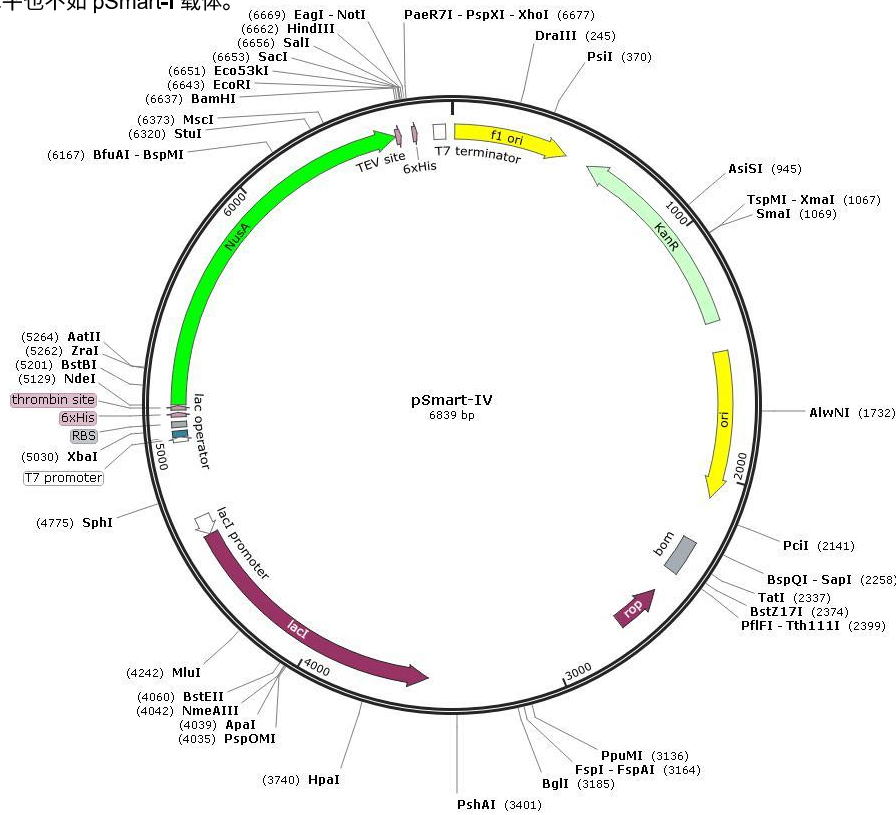


图 1 载体图谱

2. 多克隆位点

N-terminal-his6

ATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGTGCCGCGCGGCAGCCATATGAACAAAGAAATTTGGCTGTAGTT
GAAGCCGTATCCAATGAAAAGGCGCTACCTCGCGAGAAGATTTTCGAAGCATCGGAAAGCGCGCTGGCGACAGCAACAAAGAAAA
ATATGAACAAGAGATCGACGTCCGCGTACAGATCGATCGCAAAGCGGTGATTTTGACACTTTCGTCGCTGGTTAGTTGTTGATGAA
GTCACCCAGCCGACCAAGGAAATCACCTTGAAGCCGCACGTTATGAAGATGAAAGCCTGAACCTGGGCGATTACGTTGAAGATCA
GATTGAGTCTGTTACCTTTGACCGTATCACTACCCAGACGGCAAACAGTTATCGTGCAGAAAGTGCGTGAAGCCGAACGTGCGAT
GGTGGTTGATCAGTCCGTGAACACGAAGGTGAAATCATCACCGGCGTGGTGAAAAAGTAAACCGCGACAACATCTCTCTGGATCT
GGGCAACAACGCTGAAGCCGTGATCCTGCGCGAAGATATGCTGCCGCGTGAAAACCTCCGCCCTGGCGACCGCGTTCGTGGCGTG
CTCTATCCGTTCCGCCGAAGCGCGTGGCGCGCAACTGTTCTCACTCGTTCGAAGCCGGAATGCTGATCGAAGTGTCCGTATT
GAAGTGCCAGAAATCGGCGAAGAAGTGATTGAAATTAAGCAGCGGCTCGCGATCCGGTTCTCGTGCAGAAATCGCGGTGAAAC
CAACGATAACGTATCGATCCGGTAGGTGCTTGCCTAGGTATGCGTGCCGCGCGTTCAGGCGGTGTCTACTGAACTGGGTGGCG
AGCGTATCGATATCGTCTGTGGATGATAACCCGCGCAGTTTCGTGATTAACGCAATGGCACCCGGCAGACGTTGCTTCTATCGTGG



TGGATGAAGATAAACACACCATGGACATCGCCGTTGAAGCCGGTAATCTGGCGCAGGCGATTGGCCGTAACGGTCAGAACGTGCGT
CTGGCTTCGCAACTGAGCGGTTGGAACTCAACGTGATGACCGTTGACGACCTGCAAGCTAAGCATCAGGCGGAAGCGCACGCAG
CGATCGACACCTTACCAAATATCTCGACATCGACGAAGACTTCCGCGACTGTTCTGGTAGAAGAAGGCTTCTCGACGCTGGAAGAAT
TGGCCTATGTGCCGATGAAAGAGCTGTTGAAATCGAAGGCCTTGATGAGCCGACCGTTGAAGCACTGCGCGAGCGTGCTAAAAAT
GCACTGGCCACCATTGCACAGGCCAGGAAGAAAGCCTCGGTGATAACAACCGGTGACGATCTGCTGAACCTTGAAGGGGTAGA
TCGTGATTTGGCATTCAAACCTGGCCGCCGTTGGCGTTGTACGCTGGAAGATCTCGCCGAACAGGGCATTGATGATCTGGCTGATAT
CGAAGGGTTGACCGACGAAAAAGCCGGAGCACTGATTATGGCTGCCCGTAATATTTGCTGGTTCGGTGACGAAGCGGAAAAACCTGT
ATTTTCAGGGA|GGATCCGAATTCGAGCTCCGTCGACAAGCTTTCGGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCTGA
multi-clonal sites (BamHI, EcoRI, SacI, Sall, HindIII, NotI, XhoI) C-terminal-his6

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

3. 蛋白酶切位点

mgssshhhhhssglyprgshmnkeilavveavsnekalprekifeasesalatatkkkyeqeidrvrqdrksqdfdftrwlvvdevtqptkeitleaaryedeslnlgdyvedqiesvtfdrirtqt
akqvivqkvrearamvvdqfrehegeitgvvkvnrndisldlgnnaevilredmiprenfrpgdrvrvglysvrpeargaqlfvtrskpemlielfrievpeigeevieikaaardpgsrakiavk
tndkridpvgacvgrmarvqavstelggeridivlwdndnqaqfvinamapadvasivvdedkhtmdiaevagnlaqairngqnvrlasqlsgwelnvmtvddllqakhqaeahaaidftkyi
didedfatlvveegfstleelayvpmkelleieiglddeptvealreraknalatiaqaqeeslgdnkpaddllnlegvdrdlafklaargvctledlaeqgiddladiegltdekagalimaarnicwfgde
aenlyfqjggse

N-端的 His6-tag 可以用于镍柱纯化，C-端 His6-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 NusA 的核酸序列以及在载体中的位置（反向互补）

ATCCGGATATAGTTCCTCCTTTCAGCAAAAAACCCCTCAAGACCCGTTAGAGGCCCAAGGGTTATGCTAGTTATTGCTCAGCGGT
GGCAGCAGCCAACTCAGCTTCCTTTCGGGCTTTGTTAGCAGCCGGATCTCAGTGGTGGTGGTGGTGGTCTCGAGTTCGGCCGCA
AGCTTGTGACGCGAGCTCGAATTCGATCCTCCCTGAAAATACAGGTTTCCGCTTCGTCAACCGAACCAGCAAATATTACGGGCAGC
CATAATCAGTGCTCCGGCTTTTTTCGTCGGTCAACCCTTCGATATCAGCCAGATCATCAATGCCCTGTTCCGGCGAGATCTCCAGCGTA
CAAACGCCACGGGCGGCCAGTTTGAATGCCAAATCACGATCTACCCCTTCAAGGTTTCAGCAGATCGTCAGCCGTTTGTATCACCG
AGGCTTTCTTCTGGCCCTGTGCAATGGTGGCCAGTGCATTTTAGCACGCTCGCGCAGTGCCTCAACGGTTCGGCTCATCAAGGCC
TTCGATTTCAACAGCTCTTTCATCGGCACATAGGCCAATTCTCCAGCGTCGAGAAGCCTTCTTCTACCAGAACAGTCGCGAAGTCT
TCGTGATGTCGAGATATTTGGTGAAGGTGTCGATCGCTGCGTTCGCTTCGCTTACGCTTAGCTTGCAGTTCGTCAACGGTTCATC
ACGTTGAGTTCCCAACCGCTCAGTTGCGAAGCCAGACGCACGTTCTGACCGTTACGGCCAATCGCCTGCGCCAGATTACCGGCTTC
AACGGCGATGTCCATGGTGTGTTTATCTTATCCACCACGATAGAAGCAACGTCTGCCGGTGCCATTGCGTTAATCACGAACGTCGC
CGGGTTATCATCCCACAGGACGATATCGATACGCTCGCCACCCAGTTCAGTAGACACCGCCTGAACACGCGCGCCACGCATACCTAC
GCAAGCACCTACCGGATCGATACGTTTATCGTTGGTTTTACCGCGATTTTCGCACGAGAACCAGGATCGCGAGCCGCTGCTTAAAT
TTCAATCACTTCTTCGCCGATTTCTGGCACTTCAATACGGAACAGTTCGATCAGCATTTCGGCTTGAACAGAGTACGAACAGTTGC
GCGCCACGCGCTTCCGGGCGAACGGAATAGACACGCCACGAACCGGTCGCCAGGGCGGAAGTTTTACGCGGCAGCATATCT
TCGCGCAGGATCACGGCTTCAGCGTTGTTGCCAGATCCAGAGAGATGTTGTCGCGGTTACTTTTTTACCACGCCGGTGATGATT
TCACCTTCGTGTTACGGAACGATCAACCACCATCGCACGTTCCGGCTTACGCACTTCTGCACGATAACCTGTTTTGCCGCTCGG
GTAGTGATACGGTCAAAGGTAACAGACTCAATCTGATCTTCAACGTAATCGCCAGGTTCAAGGCTTTCATCTTATAACGTGCGGCTT
CAAGGGTGATTTCCCTTGGTCCGCTGGGTGACTTCATCAACAATAACCAGCGACGGAAAGTGTCAAAAATCACCGCTTTGCGATCGA
TCTGTACGCGGACGTCGATCTTGTTCATATTTTTCTTTGTTGCTGTGCCAGCGCGCTTCCGATGCTTCGAAAATCTTCTCGCG
AGGTAGCGCCTTTTATTGGATACGGCTTCAACTACAGCCAAAATTTCTTTGTTTCATATGGCTGCCGCGCGCCACCAGGCCGCTGTCT
GTGATGATGATGATGATGGCTGCTGCCATGGTATATCTCCTTCTTAAAGTTAAACAAAATTTCTTAGAGGGGAATTTGTTATCCGCTC
ACAATCCCCTATAGTGAGTCGTATTAATTTTCGCGGGATCGAGATCTCGATCCTCTACGCCGACGCATCGTGCCGGCATCACCGG



CGCCACAGGTGCGGTTGCTGGCGCCTATATCGCCGACATCACCGATGGGGAAGATCGGGCTCGCCACTTCGGGCTCATGAGCGCT
TGTTTCGGCGTGGGTATGGTGGCAGGCCCGTGGCCGGGGACTGTTGGGCGCCATCTCCTTGCATGCACCATTCTTGGCGGG
CGGTGCTCAACGGCCTCAACCTACTACTGGGCTGCTTCTAATGCAGGAGTCGCATAAGGGAGAGCGTCGAGATCCCGGACACCAT
CGAATGGCGCAAAACCTTTCGCGGTATGGCATGATAGCGCCCGAAGAGAGTCAATTCAGGGTGGTGAATGTGAAACCAGTAACGTT
ATACGATGTCGCAGAGTATGCCGGTGTCTCTTATCAGACCGTTTCCCGCGTGGTGAACCAGGCCAGCCAGTTTCTGCGAAAACGC
GGAAAAAGTGAAGCGGCGATGGCGGAGCTGAATTACATTCCAACCGCGTGGCACAACAACCTGGCGGGCAACAGTCGTTGCT
GATTGGCGTTGCCACCTCCAGTCTGGCCCTGCACGCGCCGTCGCAAAATTGTCGCGGCGATTAATCTCGCGCCGATCAACTGGGTG
CCAGCGTGGTGGTGTGATGGTAGAACGAAGCGGCGTCAAGCCTGTAAAGCGGCGGTGCACAATCTTCTCGCGCAACGCGTCAG
TGGGCTGATCATTAACTATCCGCTGGATGACCAGGATGCCATTGCTGTGGAAGCTGCCTGCACTAATGTTCCGGCGTATTCTTGTGAT
GTCTCTGACCAGACACCCATCAACAGTATTATTTCTCCCATGAAGACGGTACGCGACTGGGCGTGGAGCATCTGGTGCATTGGGT
CACCAGCAAATCGCGCTGTAGCGGGCCATTAAGTTCTGTCTCGCGCGTCTGCGTCTGGCTGGCTGGCATAAATATCTCACTGCG
AATCAAATTCAGCCGATAGCGGAACGGGAAGGCGACTGGAGTGCCATGTCCGGTTTTCAACAAACCATGCAAATGCTGAATGAGGG
CATCGTTCCCACTGCGATGCTGGTTGCCAACGATCAGATGGCGCTGGGCGCAATGCGCGCCATTACCGAGTCCGGGCTGCGCGTT
GGTGGGATATCTCGGTAGTGGGATACGACGATACCGAAGACAGCTCATGTTATATCCCGCCGTTAACCACCATCAAACAGGATTTTC
GCCTGCTGGGGCAAAACAGCGTGGACCCTTCTGCAACTCTCTCAGGGCCAGGCGGTGAAGGGCAATCAGCTGTTGCCCGTCT
CACTGGTGAAGAAAACACCCCTGGCGCCCAATACGCAAAACCGCTCTCCCCGCGGTTGGCCGATTATTAATGCAGCTGGCA
CGACAGTTTCCCGACTGGAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTAAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCGGGATCTCGAC
CGATGCCCTTGAGAGCCTTCAACCCAGTCAGCTCCTTCCGGTGGGCGCGGGGCATGACTATCGTCGCCGCACTTATGACTGTCTTC
TTTATCATGCAACTCGTAGGACAGGTGCCGGCAGCGCTCTGGGTCAATTTCCGGCAGGACCGCTTTCGCTGGAGCGCGACGATGAT
CGGCTGTGCGTTGCGGTATTCCGAATCTTGACAGCCCTCGCTCAAGCCTTTCGCTACTGGTCCCGCCACCAAACGTTTCGGCGAGA
AGCAGGCCATTATCGCCGGCATGGCGGCCACCGGTGCGCATGATCGTCTCCTGTGTTGAGGACCCGGCTAGGCTGGCGGG
GTTGCCTTACTGGTTAGCAGAATGAATCACCGATACGCGAGCGAACGTGAAGCGACTGCTGCTGCAAAACGCTCTGCGACCTGAGCA
ACAACATGAATGGTCTTCCGTTTCCGTGTTTCGTAAGTCTGGAACCGGAAAGTCAAGCGCCCTGCACCATTATGTTCCGGATCTGC
ATCGCAGGATGCTGCTGGCTACCCTGTGGAACACCTACATCTGTATTAACGAAGCGCTGGCATTGACCCTGAGTGATTTTTCTCTGGT
CCCGCCGATCCATACCGCCAGTTGTTTACCCTCACAACGTTCCAGTAACCGGGCATGTTTATCATCAGTAACCCGATCGTGAGCAT
CCTCTCTGTTTTCATCGGTATCATTACCCCATGAACAGAAATCCCCCTTACACGGAGGCATCAGTGACCAAAACAGGAAAAACCGC
CCTTAACATGGCCCGCTTATCAGAAGCCAGACATTAACGCTTCTGGAGAACTCAACGAGCTGGACGCGGATGAACAGGCAGACAT
CTGTGAATCGCTTACGACCACGCTGATGAGCTTACCAGCTGCCTCGCGGTTTCCGGTATGACGGTGAACCTCTGACACA
TGCAGCTCCCGGAGACGGTACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAAGGGCGCGTACGCGGTTG
GCGGGTGTGCGGGCGCAGCCATGACCCAGTCACGTAGCGATAGCGGAGTGATACTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGATTG
TACTGAGAGTGACCATATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCTCTTCCGCTTCTC
GCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTGTTCCGGTGCAGGCGGATCAGCTCAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAAT
CAGGGGATAACGCAGGAAAGACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTT
CCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCAAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACC
AGGCGTTTTCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGTTACCGGATACCTGTCCGCCTTCTCCCTTCG
GGAAGCGTGGCGTTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTAGTTCGGTGTAGGTGTTCCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGA
ACCCCGGTTCCAGCCGACCGCTGCGCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGTAAGACACGACTTATCGCCACTGG
CAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTAC
ACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAGAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACA
ACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTT
CTACGGGGTCTGACGCTCAGTGAACGAAAACCTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAACAATAAACTGTCTGCTTACATAAACAGTA
ATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGCTTGTCTTAGGCCGCGATTAATCCAACATGGATGCTGATTTATATGGG
TATAAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGATTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGA
AACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCAT
CAAGCATTATCCGTACTCCTGATGATGCATGGTACTCACCCTGCGATCCCGGGAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATC
CTGATTACAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTCTGCGCCGGTGCATTGATTCTGTTTGAATTTGCTTTTTAACAGC
GATCGCGTATTTGCTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTGATGACGAGCGTAATGGCT
GGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAGAAATGCATAAACTTTTGCATTCTACCGGATTGAGTGTCACTCATGGTGAATTTCTCACTTGA
TAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGTTGATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATACCAGGATCTTGCCATCC
TATGGAAGTCCCTGGTGGTGGTTTTCTCCTTATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCA
GTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAAGAATTAATTCATGAGCGGATACATATTTGAATGATTTAGAAAAATAACAAATAGGGT
TCCGCGCACATTTCCCGAAAAGTCCACCTGAAATTGTAACGTTAATATTTGTTAAATTCGCGTTAAATTTTTGTTAAATCAGCTC



ATTTTTTAACCAATAGGCCGAAATCGGC AAAATCCCTTATAAATCAAAAAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGA
ACAAGAGTCCACTATTAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCAT
CACCC TAATCAAGTTTTTTGGGGTTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCCCTAAAGGGAGCCCCGATTTAGAGCTTGACGGG
GAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACG
CTGCGCGTAACCACCACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTCCCATTGCCA

6. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
pSmart IV	SLP026	100 ng/ μ l, 10 μ l