



pSmart V 载体

1. 产品介绍

Wilkinson-Harrison 溶解性模型中，主要考虑八种氨基酸残基的比例，即亲水氨基酸的比例以及蛋白的净负电荷数量(对应指标为:NGPS%，DE-KR%)。Davis 等人的确使用此模型获得了一些成功。2007 年华东师范大学的 Su 等人利用此模型进行了一系列融合标签蛋白筛选。他们利用绿色荧光蛋白(GFP)，牛肠激酶(EK 蛋白酶)作为研究模型，比较了 SUMO，MsbY 等蛋白的促溶解性。结果符合 Wilkinson-Harrison 模型，MsbY 的表现超过了 SUMO。

MsbY 是一个强酸性蛋白，来自于大肠杆菌本身，被认为与蛋白转运有关。它只有 124 个残基，但是在 pH7.0 时，有 33 个净负电荷，很好地符合了 Wilkinson-Harrison 模型。MsbY 和 SUMO 的性质有些类似，表观分子量也比实际分子量要大一些。我们把这一个蛋白克隆到 pET-28a 载体的骨架中，构建了带有 His6-tag 纯化标签以及 TEV 蛋白酶切位点的表达载体，命名为 pSmart-V。

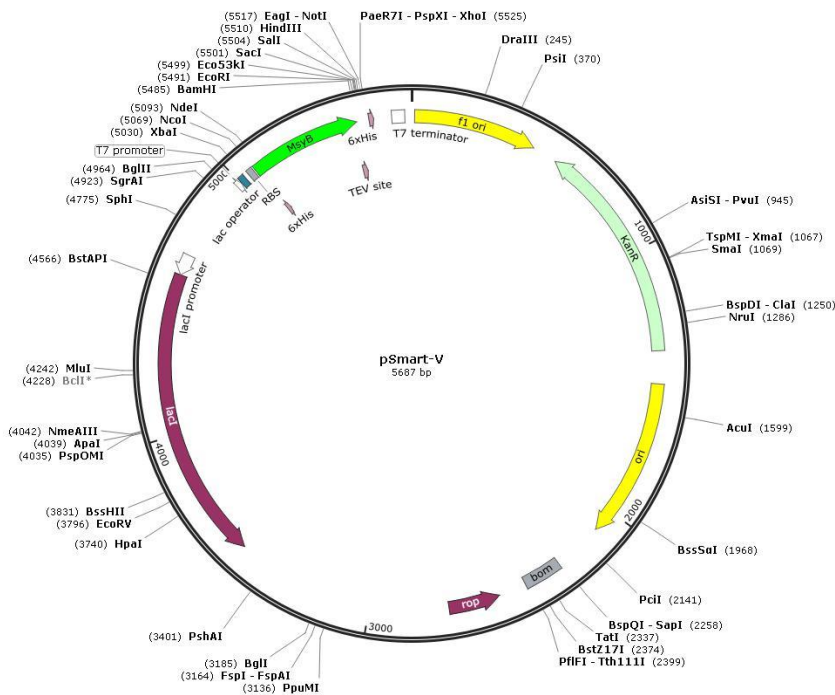


图 1 载体图谱

2. 多克隆位点

N-terminal-his6

ATGGGTCACCATCACCATCACCATATGACCATGTACGCAACGCTTGAAGAAGCCATTGACGCTGCACGCGAAGAATTTCTTGCAGAC
AACCCCGGCATCGACGCCGAAGATGCGAATGTGCAACAGTTCAATGCCAAAAATACGTTTTGCAGGACGGCGACATCATGTGGCA
AGTTGAGTTTTTGGCCAGCAAGGGGAAGAAGGTGAATGTTTACCTATGCTTAGCGGTGAAGCCGCGCAAAGTGTTTTTGATGGCGA
CTATGATGAGATAGAGATACGCCAGGAGTGGCAGGAAGAGAATACATTACATGAATGGGACGAGGGGGAATTTAGCTTGAAGCCACC
GCTGGATACCGAGGAAGGACGCGCAGCAGCTGATGAGTGGGATGAACGTGAAAACCTGTATTTTCAGGGATCCGAATTCGAGCTC
CGTCGACAAGCTTCGGGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCCTGA 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 MsyB 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

MGHHHHHHMTMYATLEEIDAAREEFLADNP GIDAEDANVQQFNAQKYVLQDGDIMWQVEFFADEGEEGECPLMSLGEAAQSVFDGDY
DEIEIRQEWQEENTLHEWDEGEFQLEPLDTEEGRAA DEWDERENLYFQ↓GSEF

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



GTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAG
CATCAAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTTCCCCTGGAAGCTCCCT
CGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCT
CACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCCGCTCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCGTTCCAGCCCAGCCGCTG
CGCCTTATCCGTAACATATCGTCTTGAGTCCAACCCGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGAACAGGATTAG
CAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTG
CGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTT
TGTTTGAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGAA
CGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTTCATGAACAATAAACTGTCTGCTTACATAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATT
CAACGGGAAACGCTTTGCTCTAGGCCGCGATTAATTCACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCG
GGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGATTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCA
ATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTACTIONCTGAT
GATGCATGGTACTCACCCTGCGATCCCCGGGAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGA
TGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTGATTCTGTTGTAATTGCTTTTTAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAG
GCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTTGGTTGATGCGAGTGATTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCTGTTGAACAAGTCTGAAAA
GAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTACCGGATTGATCGTCACTCATGGTATTCTCACTTGATAACCTATTTTTGACGAGGGGAA
ATTAATAGGTTGATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTGCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTGAGTTT
TCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGT
TTTTCTAAGAATTAATTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGAAAA
GTGCCACCTGAAATTGTAACGTTAATTTTTGTTAAAATTCGCGTTAAATTTTTGTTAAATCAGCTCATTTTTTAACCAATAGGCCGAAA
TCGGCAAAATCCCTATAAATCAAAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGAACAAGAGTCCACTATTAAGAAC
GTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCACTACGTGAACCATCACCTAATCAAGTTTTTTGGGG
TCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGAACCCTAAAGGGAGCCCCGATTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGA
GAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTACACGCTGCGCGTAACCACCACACCCG
CCGCGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTCCCATTCGCCA

6. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
pSmart V	SLP027	100 ng/μl, 10 μl