



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 Dextrin 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。

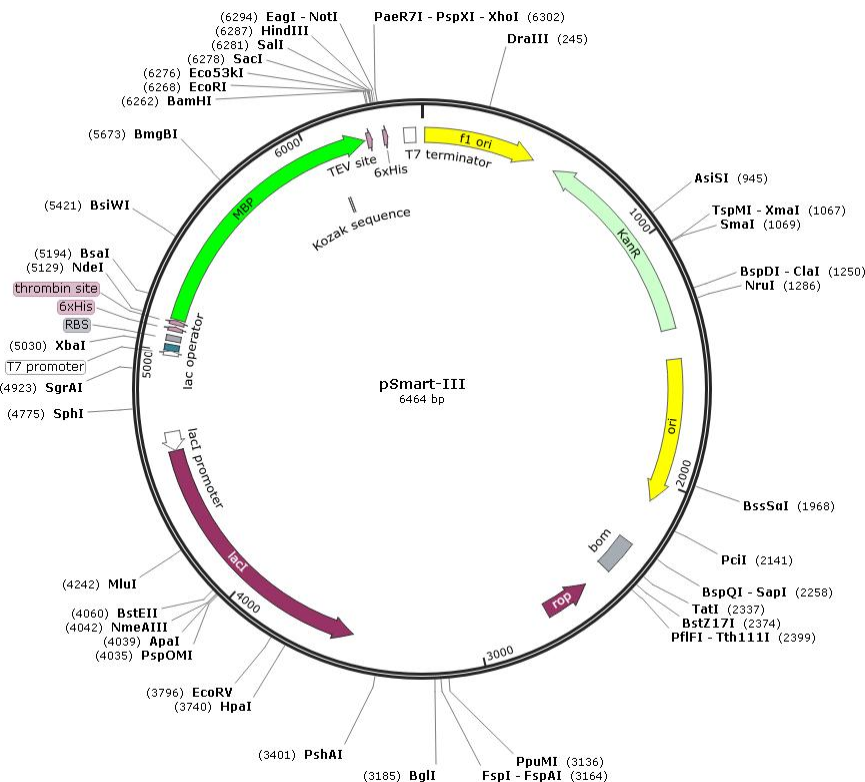


图 1 载体图谱

2. 多克隆位点

N-terminal-his6

ATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGTGCCGCGCGGCAGCCATATGAAAATCGAAGAAGGTAACTGGT
AATCTGGATTAACGGCGATAAAGGCTATAACGGTCTCGCTGAAGTCGGTAAGAAATTCGAGAAAAGATACCGGAATTAAGTCACCGTT
GAGCATCCGATAAACTGGAAGAGAAATCCACAGGTTGCGGCAACTGGCGATGGCCCTGACATTATCTTCTGGGCACACGACCG
CTTTGGTGGCTACGCTCAATCTGGCCTGTTGGCTGAAATCACCCCGGACAAAGCGTTCCAGGACAAGCTGTATCCGTTTACCTGGGA
TGCCGTACGTTACAACGGCAAGCTGATTGCTTACCCGATCGCTGTTGAAGCGTTATCGCTGATTATAACAAAGATCTGCTGCCGAAC
CCGCCAAAACCTGGGAAGAGATCCCGGCGCTGGATAAAGAACTGAAAGCGAAAGGTAAGAGCGCGCTGATGTTCAACCTGCAAG
AACCGTACTTCACTGGCCGCTGATTGCTGCTGACGGGGTTATGCGTTCAAGTATGAAAACGGCAAGTACGACATTAAGACGTGG
GCGTGGATAACGCTGGCGCGAAAGCGGGTCTGACCTTCTGGTTGACCTGATTA AAAACAAACACATGAATGCAGACACCGATTACT
CCATCGCAGAAGCTGCCTTTAATAAAGGCGAAACAGCGATGACCATCAACGGCCCGTGGGCATGGTCCAACATCGACACCAGCAAA
GTGAATTATGGTGTAAACGGTACTGCCGACCTTCAAGGGTCAACCATCCAACCGTTTCGTTGGCGTGCTGAGCGCAGGTATTAACGCC
GCCAGTCCGAACAAAGAGCTGGCAAAGAGTTCCTCGAAAACATCTGCTGACTGATGAAGTCTGGAAGCGGTTAATAAAGACAAA
CCGCTGGGTGCCGTAGCGCTGAAGTCTTACGAGGAAGAGTTGGCGAAAGATCCACGTATTGCCGCCACCATGGAAAACGCCCAGA
AAGGTGAAATCATGCCGAACATCCCGCAGATGTCCGCTTCTGGTATGCCGTGCGTACTGCGGTGATCAACGCCGCCAGCGGTCTGT





CAGACTGTCGATGAAGCCCTGAAAGACGCGCAGACTCGTACTAAGGAAAACCTGTATTTTCAGGGA]GGATCCGAATTCGAGCTCCG
TCGACAAAGCTTTCGGGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCTGA multi-clonal sites (BamH I, EcoR I, Sac I, SaII,
HindIII, Not I, Xho I) 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

MGSSHHHHHSSGLVPRGSHMKIEEGKLIWIWINGDKGYNGLAEVGGKFEKDTGIKVTVEHPDKLEEKFPQVAATGDGPDIIFWAHDRFGG
YAQSGLLAEITPKAFQDKLYPFTWDAVRYNGKLIAYPIAVEALSIIYNKDLLPNPPKTWEEIPALDKELKAKGKSALMFNLQEPYFTWPLIAA
DGGYAFKYENGYDIKDVGDVGNAGAKAGLTFVLVDLIKNKHMNADTDYSIAEAFNKGETAMTINGPWAWSNIDTSKVNYGVTVLPTFKGQ
PSKPFVGLSAGINAASPNKELAKEFLENYLLTDEGLEAVNKDKPLGAVALKSIEELAKDPRIATMENAQKGEIMPNIQMSAFWYAVRT
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 BamH I 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。

TGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGCGGGTGTGGTGTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAG
CGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCTTTCTCGCCACGTTCCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGC
TCCCTTAGGGTTCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGCCATCGC
CCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCAAAACCTGGAACAACACTCAACCC
TATCTCGGTCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTGCCGATTTCCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTAACGCG
AATTTTAAACAAAATATAACGTTTACAATTTAGGTTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTTCTAAATAC
ATTCAAATATGTATCCGCTCATGAATTAATCTTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATCATATCAGGATTATCAAT
ACCATATTTTGAAGAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTCCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCT
GCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATAACCTATTAATTTCCCTCGTCAAAAATAAGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGAC
GACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCA
CTCGCATCAACCAACCGTTATTCAATTCGATTCGCGCTGAGCGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTAAAGGACAATTACAAACAG
GAATCGAATGCAACCGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATTTTTACCTGAATCAGGATATTCTTCTAATACCTGGAATGC
TGTTTTCCCGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTGGAGAGGCATAAATTC
CGTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTACAGAAACACTCTGGCGCATCG
GGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCGACATTATCGCGAGCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTG
GAATTTAATCGCGGCCTAGAGCAAGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGATTACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTT
TATTGTTTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGAT
CCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCA
ACTTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACCTTCA
AGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCTGTCTTACCG
GGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGC
GAACGACCTACACCGAAGTGAATACCTACAGCGTGAAGTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGAT
CCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCAGGGGGAAACGCGCTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGT
TTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTGCATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTT
TTACGGTTTCTGGCCTTTTGTGCTGCTTTCATGCTTCTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTT
TGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACCGAAGCAGCGAGCGAGTCAAGTGAAGCGGAGGAGCGGAGCGGCTGATGCG
GATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAG
CCAGTATACACTCCGCTATCGCTACGTGACTGGTTCATGGTGGCGCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGG





CTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGTTTTACCGTTCATCACCG
 AAACGCGCGAGGCAGCTGCGGTAAAGCTCATCAGCGTGGTCTGGAAGCGATTACAGATGTCTGCCTGTTTCATCCGCGTCCAGCTC
 GTTGAGTTTTCTCAGAAGCGTTAATGTCTGGCTTCTGATAAAGCGGGCCATGTTAAGGGCGTTTTTCTGTTTGGTCACTGATGCC
 TCCGTGTAAGGGGATTCTGTTTCATGGGGTAATGATACCGATGAAACGAGAGAGGATGCTCACGATACGGGTTACTGATGATGAA
 CATGCCCGGTTACTGGAACGTTGTGAGGGTAAACAACCTGGCGGTATGGATGCGGGCGGGACCAGAGAAAAATCACTCAGGGTCAATG
 CCAGCGCTTCGTTAATACAGATGTAGGTGTTCCACAGGGTAGCCAGCAGCATCCTGCGATGCAGATCCGGAACATAATGGTGCAGGG
 CGCTGACTTCCGCGTTTTCCAGACTTACGAAACACGGAACCGAAGACCATTGTTGTTGCTCAGGTGCGCAGACGTTTTGCAGCA
 GCAGTCGCTTACGTTGCTCGCTGCGTATCGGTGATTGTTCTGCTAACAGTAAGGCAACCCCGCCAGCCAGCTAGCCGGTCTCAACG
 ACAGGAGCACGATCATGCGACCCCGTGGGGCCGCCATGCCGGCGATAATGGCCTGCTTCTCGCCGAAACGTTTGGTGGCGGGACC
 AGTGACGAAGGCTTGAGCGAGGGCGTCAAGATTCCGAATACCGCAAGCGACAGGCCGATCATCGTCGCGCTCCAGCGAAAGCGG
 TCCTCGCCGAAAATGACCCAGAGCGCTGCCGGCACCTGTCTACGAGTTGCATGATAAAGAAGACAGTCATAAGTGCGGCGACGAT
 AGTCATGCCCGCGCCACCAGGAGGAGCTGACTGGGTTGAAGGCTCTCAAGGGCATCGGTGAGATCCCGGTGCCTAATGAGTG
 AGCTAACTTACATTAATGCGTTGCGCTCACTGCCCGTTTTCCAGTCGGGAAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAA
 CGCGCGGGGAGAGGCGTTTTGCGTATTGGGCGCCAGGGTGGTTTTTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTC
 ACCGCTTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTTGCCAGCAGGCGAAAATCCTGTTTATGTTGGTTAACG
 GCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGG
 CGCGCATTGCGCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTATTGAGCATTGATGTTGTTGTT
 GAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCTTCCCGTTCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATTTATGCCAGCCAGCCA
 GACGCAGACGCGCCGAGACAGAATTAATGGGCCCGCTAACAGCGCGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCC
 CAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAGTG
 CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTATCCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTG
 CACCGCGCTTTACAGGCTTCGACGCGCTTCTGTTTACCATCGACACCACCAGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAA
 TCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTT
 GTTGTGCCACGCGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGTTTCCACTTTTTCCCGGTTTTTCGAGAAAACGTGGCTGGCC
 TGGTTACCACGCGGGAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTACATTACCACC
 CTGAATTGACTCTTCCGGGCGCTATCATGCCATACCGCGAAAGGTTTTGCGCCATTGATGGTGTCCGGGATCTCGACGCTCTCC
 CTTATGCGACTCCTGCATTAGGAAGCAGCCAGTAGTAGTTGAGGCGGTTGAGCACCGCCGCGCAAGGAATGGTGCATGCAAGG
 AGATGGCGCCCAACAGTCCCCCGCCACGGGGCCTGCCACCATACCCACGCGGAAACAAGCGCTCATGAGCCGAAGTGGCGAG
 CCCGATTTCCCATCGGTGATGTCGGCGATATAGGCGCCAGCAACCGCACCTGTGGCGCCGGTATGCCGGCCACGATGCGTCC
 GCGGTAGAGGATCGAGATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTTGAGCGGATAACAATTTCCCTCTAGAAA
 TAATTTTGTAACTTTAAGAAGGAGATATACCATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCCTGGTGCCGCGCGGCA
 GCCATATGAAAATCGAAGAAGGTAAACTGGTAATCTGGATTAACGGCGATAAAGGCTATAACGGTCTCGCTGAAGTCGGTAAGAAAT
 CGAAGAAGATACCGGAATTAAGTCACCGTTGAGCATCCGATAAAGTGAAGAGAAATTTCCACAGTTGCGGCAACTGGCGATG
 GCCCTGACATTATCTTGGGCACAGACCGCTTTGGTGGCTACGCTCAATCTGGCCTGTTGGCTGAAATCACCCCGGACAAAGCG
 TTCCAGGACAAGCTGTATCCGTTTACCTGGGATGCCGTACGTTACAACGGCAAGCTGATTGCTTACCCGATCGCTGTTGAAGCGTTAT
 CGCTGATTTATAACAAAGATCTGCTGCCGAACCCGCCAAAAACCTGGGAAGAGATCCCGGCGCTGGATAAAGAACTGAAAGCGAAA
 GGTAAGAGCGCGCTGATGTTCAACCTGCAAGAACCGTACTTACCTGGCCGCTGATTGCTGCTGACGGGGGTTATGCGTTCAAGTA
 TGAAAACGGCAAGTACGACATTAAGAGCGTGGGCGTGGATAACGCTGGCGCGAAAGCGGGTCTGACCTTCTGGTTGACCTGATTA
 AAAACAAACACATGAATGCAGACACCGATTACTCCATCGCAGAAGCTGCCTTAAATAAAGGCGAAACAGCGATGACCATCAACGGCC
 CGTGGGCATGGTCCAACATCGACACCAGCAAAGTGAATTATGGTGTAAACGGTACTGCCGACCTTCAAGGGTCAACCATCCAACCGT
 TCGTTGGCGTGTGAGCGCAGGTATTAACGCCGCCAGTCCGAACAAAGAGCTGGCAAAAGAGTTCTCGAAAACATCTGCTGACT
 GATGAAGGTCTGGAAGCGGTTAATAAAGACAAACCGCTGGGTGCCGTAGCGCTGAAGTCTTACGAGGAAGAGTTGGCGAAAGATCC
 ACGTATTGCCGCCACCATGGAAAACGCCAGAAAAGGTGAAATCATGCCGAACATCCCGCAGATGTCCGCTTCTGGTATGCCGTGC
 GTACTGCGGTGATCAACGCCGCCAGCGGTGCTCAGACTGTGATGAAGCCCTGAAAGACGCGCAGACTCGTACTAAGGAAAACCT
 GTATTTTACAGGGAAGGATCCGAATTCGAGCTCCGTCGACAAGCTTGGCGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCTGAGATCCG
 GCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCAGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACG
 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

