



pSmart II 载体

1. 产品介绍

IF2 蛋白是大肠杆菌的翻译起始蛋白之一，它同时和核糖体、tRNA、mRNA 等翻译元件相互作用，调节了大肠杆菌的蛋白翻译。这一个蛋白的 N-端有三个结构域，有较强的亲水性，同时结构域 I 能够强烈促进 IF2 蛋白截短体表达。因此，Mortensen 等人推测 IF2 的 N-端部分可能促进重组蛋白在大肠杆菌中的可溶表达。于是他们使用了链亲和素（Streptavidin, SA）作为测试目标，以 MBP、NusA 两个融合蛋白为正对照，进行了对比研究。发现 IF2 的结构域 I -III 可以促进重组蛋白的可溶表达并提高表达量。考虑到效率，他们选定了 IF2 蛋白结构域 I 的 158 个氨基酸残基作为促进可溶表达的融合蛋白标签，并报道了此标签可以促进单链抗体 ScFV 的可溶表达。其实，IF2 domain I 标签蛋白促进可溶表达的能力，并不比 MBP、NusA 强多少。但它分子量较小，对于目的蛋白表达量的提高有明显的帮助。所以我们把这一标签蛋白克隆到 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，用作 pSmart-I 载体的补充。

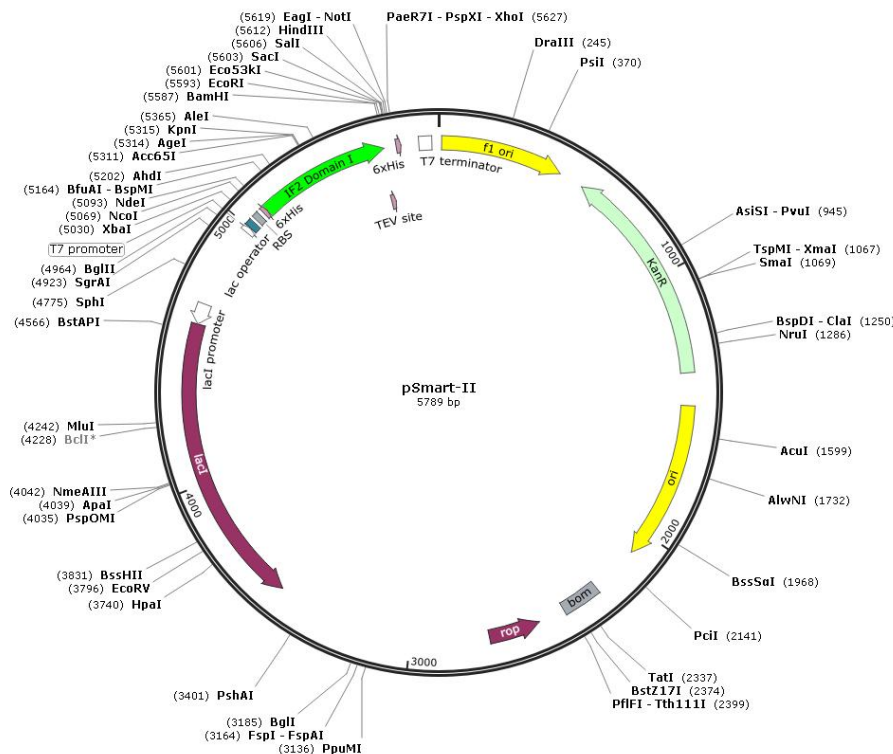


图 1 载体图谱

2. 多克隆位点

N-terminal-his6

ATGGGTCACCATCACCATCACCATATGACAGATGTAACGATTAAAACGCTGGCCGCAGAGCGACAGACCTCCGTGGAACGCCTGGTACAGCAATTTGCTGATGCAGGTATCCGGAAGTCTGCTGACGACTCTGTGTCTGCACAAGAGAAACAGACTTTGATTGACCACCTGAATCAGAAAAATTCAGGCCCGGACAAATTGACGCTGCAACGTA AACACGCAGCACCCCTTAACATTCCTGGTACCGGTGGAAAAAGCAAA TCGGTACAAATCGAAGTCCGCAAGAAACGCACCTTTGTGAAACGCGATCCGCAAGAGGCTGAACGCCTTGCAGCGGAAGAGCAAG CGCAGCGTGAAGCGGAAGAGCAAGCCCGTCTGAGGAGAAGAATCGGCTAAACGCGAGGCGCAACAAAAAGCTGAACGTGAGG CCGCAGAACAAGCTAAGCGTGAAGCTGCTGAACAAGCGAAACGTGAAGCTGCGGAAAAAGACAAAGTGAAAACTGTATTTTCAG

↓GGATCCGAATTCGAGCTCCGTCGACAAAGCTTGGCGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCTGA

multi-clonal sites(BamH I ,EcoR I , Sac I , Sa II ,HindIII,Not I ,Xho I) C-terminal-his6

接入蛋白的读码框需要和 IF2 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

MGHHHHHHMTDVTIKTLAAERQTSVERLVQQFADAGIRKSADDSVSAQEKQLIDHLNQNKNSGPKLTLQRKTRSTLNIPGTGGKSKSVQ IEVRKKRTFVKRDPQEAERLAAEEQAQREAEQARREAEESAKREAQQKAEREAEEQAKREAEEQAKREAEEKDKV ENLYFQJGSEF



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-Ser 两个冗余氨基酸残基。注意: 标准的蛋白酶酶切位点下游第一个氨基酸是 Gly, 才能保证切开, 但是根据我的经验下游第一个残基是 Met 也可以切开, 如果需要获得无冗余残基的目的蛋白, 你也可以尝试无缝克隆, 将目的蛋白直接接到酶切位点的下游。蛋白酶的具体信息请参考我公司 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 IF2 Domain I 的核酸序列以及在载体中的位置。

```
TGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAGCGCGGGGTGTGGTGTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAG
CGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGC
TCCCTTAGGGTTCCGATTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGC
CCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCAAAACCTGGAACAACACTCAACCC
TATCTCGGTCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTGCCGATTTCCGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTAACGCG
AATTTTAAACAAAATTAACGTTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTTCTAAATAC
ATTCAAATATGTATCCGCTCATGAATTAATCTTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAACTGCAATTTATCATATCAGGATTATCAAT
ACCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCT
GCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATAACCTATTAATTTCCCTCGTCAAAAATAAGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGAC
GACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCA
CTCGCATCAACCAACCGTTATTCATTCGTGATTGCGCCTGAGCGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTAAAGGACAATTACAAACAG
GAATCGAATGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATTTTTACCTGAATCAGGATATTCTTCTAATACCTGGAATGC
TGTTTTCCCGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTCCGGAAGAGGCATAAATTC
CGTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACCTTGCGCATCG
GGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCGACATTATCGCGAGCCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTG
GAATTTAATCGCGGCCTAGAGCAAGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGATTACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTT
TATTGTTTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGAT
CCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCA
ACTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACCTTCA
AGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTACCG
GGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGC
GAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTAT
CCGGTAAGCGGCAGGGTCCGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGT
TTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACCGGCCCTTT
TTACGGTTCCTGGCCTTTTGTGCGCTTTTGTCTACATGTTCTTTCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTT
TGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAAGTGAAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCTGATGCG
GATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATATGGTGCATCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAG
CCAGTATACACTCCGCTATCGCTACGTGACTGGGTGATGGCTGCGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGG
CTTGCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGTTTTACCGTTCATACCCG
AAACGCGCGAGGCAGCTGCGGTAAAGCTCATCAGCGTGGTCTGTAAGCGATTACAGATGTCTGCCTGTTTCATCCGCTCCAGCTC
GTTGAGTTTTCTCCAGAAGCGTTAATGTCTGGCTTGTATAAAGCGGGCCATGTTAAGGGCGGTTTTTCTGTTTGGTCACTGATGCC
TCCGTGTAAGGGGGATTTCTGTTTCATGGGGTAATGATACCGATGAAACGAGAGAGGATGCTCACGATACGGTTACTGATGATGAA
CATGCCCGGTTACTGGAACGTTGTGAGGGTAAACAACCTGGCGGTATGGATGCGGCGGGACAGAGAAAAATCACTCAGGGTCAATG
CCAGCGCTTCGTTAATACAGATGAGGTGTTCCACAGGGTAGCCAGCAGCATCTGCGATGCAGATCCGGAACATAATGGTGCAGGG
CGCTGACTTCCGCTTTCCAGACTTTACGAAACACGAAACCGAAGACCATTGTTGTTGCTCAGGTGCGCAGACGTTTTGCAGCA
GCAGTCGCTTACGTTTCGCTCGCTATCGGTGATTCTTCTGCTAACAGTAAGGCAACCCCGCCAGCCTAGCCGGTCTCAACG
ACAGGAGCACGATCATGCGACCCGTTGGGGCCGCCATGCCGGCGATAATGGCTGCTTCTCGCCGAAACGTTTGGTGGCGGGACC
AGTGACGAAGGCTTGAGCGAGGGCGTGAAGATTCCGAATACCGCAAGCGACAGGCCGATCATCGTCGCGCTCCAGCGAAAGCGG
TCCTCGCCGAAAATGACCCAGAGCGCTGCCGGCACCTGTCTACGAGTTGCATGATAAAGAAGACAGTCATAAGTGCGGCGACGAT
```





AGTCATGCCCGCGCCACCGGAAGGAGCTGACTGGGTTGAAGGCTCTCAAGGCATCGGTGAGATCCCGGTGCTAATGAGTG
 AGCTAACTTACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTGCTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAA
 CGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTCGATTGGGCGCCAGGGTGGTTTTTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTC
 ACCGCCTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTCCAGCAGCGGAAAATCCTGTTTGATGGTGGTTAACG
 GCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCTATCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGG
 CGCGCATTGCGCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATTGAGCATTGATGTTGTTGTT
 GAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCTTCCCGTTCCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATTTATGCCAGCCAGCCA
 GACGCAGACGCGCCGAGACAGAATTAATGGGCCCCGCTAACAGCGCGATTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCC
 CAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAGTG
 CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTATCCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTG
 CACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGCGCTTCGTTTCTACCATCGACACCACCGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAA
 TCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGGTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTT
 GTTGTGCCACGCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGGTTTTTCGAGAAAACGTGGCTGGCC
 TGGTTACCACGCGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGTTTTACATTACCACC
 CTGAATTGACTCTTCCGGGCGCTATCATGCCATACCGGAAAGGTTTTGCGCCATTGATGGTGTCCGGGATCTCGACGCTCTCC
 CTTATGCGACTCCTGCATTAGGAAGCAGCCAGTAGTAGTTGAGGCCGTTGAGCACCGCCGCCAAGGAATGGTGCATGCAAGG
 AGATGGCGCCCAACAGTCCCCGCGCCACGGGGCTGCCACCATACCCACGCCGAAACAAGCGCTCATGAGCCCGAAGTGGCGAG
 CCCGATCTTCCCATCGGTGATGTCGGCGATATAGGCGCCAGCAACCGCACCTGTGGCGCCGGTGTGATGCCGGCCACGATGCGTCC
 GCGGTAGAGGATCGAGATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAAA
 TAATTTGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACCATGGGTACCATCACCATCACCATATGACAGATGTAACGATTAACGCTGGCCGCA
 GAGCGACAGACCTCCGTGGAACGCCTGGTACAGCAATTTGCTGATGCAGGTATCCGGAAGTCTGCTGACGACTCTGTGTCTGCACA
 AGAGAAACAGACTTTGATTGACCACCTGAATCAGAAAAATTCAGGCCCGGACAAATTGACGCTGCAACGTAACACGCAGCACCT
 TAACATTCCTGGTACCGGTGGAAAAAGCAAATCGGTACAAATCGAAGTCCGCAAGAAACGCACCTTTGTGAAACGCGATCCGCAAGA
 GGCTGAACGCCTTGCAGCGGAAGAGCAAGCGCAGCGTGAAGCGGAAGAGCAAGCCCGTCTGAGGCAGAAGAATCGGCTAAACG
 CGAGGCGCAACAAAAGCTGAACGTGAGGCCGAGAACAAGCTAAGCGTGAAGCTGCTGAACAAGCGAAAACGTGAAGCTGCGGAA
 AAAGACAAAGTGGAAAACCTGTATTTTCAGGGATCCGAATTCGAGCTCCGTGACAAGCTTGGCGCCGCACTCGAGCACCACCACC
 ACCACCACTGAGATCCGGCTGCTAACAAAAGCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCC
 CTTGGGGCTCTAACCGGCTTTGAGGGGTTTTTCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGAT

6. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
pSmart II	SLP024	100 ng/μl, 10 μl

