



# 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,MsyB 等蛋白的促溶解性。结果符合 Wilkinson-Harrison 模型, MsyB 的表现超过了 SUMO。

MsyB 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。MsyB 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。

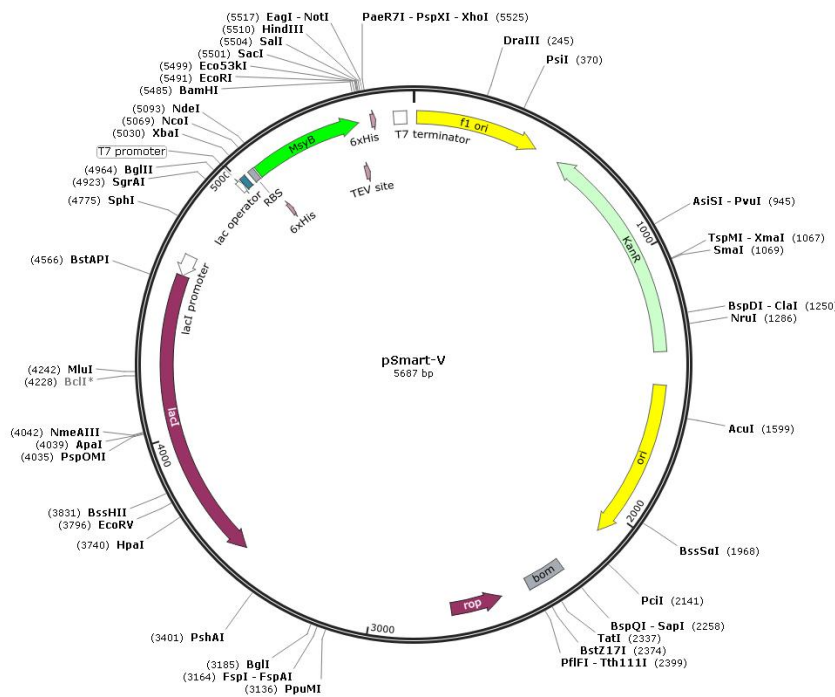


图 1 载体图谱

## 2. 多克隆位点

N-terminal-his6

```

ATGGGTCACCATCACCATCACCATATGACCATGTACGCAACGCTTGAAGAAGCCATTGACGCTGCACGCGAAGAATTTCTTGCAGAC
AACCCCGGCATCGACGCCGAAGATGCGAATGTGCAACAGTTCAATGCCAAAAATACGTTTTGCAGGACGGCGACATCATGTGGCA
AGTTGAGTTTTTTGCCGACGAAGGGGAAGAAGGTGAATGTTTACCTATGCTTAGCGGTGAAGCCGCGCAAAGTGTTTTTGATGGCGA
CTATGATGAGATAGAGATACGCCAGGAGTGGCAGGAAGAGAATACATTACATGAATGGGACGAGGGGGAATTTACAGTCTGAGCCACC
GCTGATACCGGAAGGACGCGCAGCAGCTGATGAGTGGGATGAACGTGAAAACCTGTATTTTCAG↓GGATCCGAATTCGAGCTC
CGTCGACAAGCTTGCAGGCGCACTCGAGCACCACCACCACCACTGA multi-clonal sites(BamH I, EcoR I, Sac I,
Sa II, HindIII, Not I, Xho I)
    
```

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 BamH I, EcoR I, Sac I 均可。

## 3. 蛋白酶切位点

```

MGHHHHHHMTMYATLEEIDAAREEFLADNPGIDAEDANVQQFNAAKYVLQDGDIMWQVEFFAEDGEEGECLPMLSGEAAQSVFDGDY
DEIEIRQEWQEENTLHEWDEGEFQLEPLDTEEGRAAADEWDERENLYFQ↓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  
 CATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCTGGAAGCTCCCT  
 CGTGCGCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTCGGAAGCGTGCGCTTTCTCATAGCT  
 CACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCGTTAGCCCGACCGCTG  
 CGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAG  
 CAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTG  
 CGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTT  
 TGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGAA  
 CGAAAACCTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAACAATAAACTGTCTGCTTACATAACAGTAATACAAGGGGTGTTATGAGCCATATT  
 CAACGGGAAACGTCTTGCTCTAGGCCGCGATTAAATCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCG  
 GGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGATTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCA  
 ATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTCCGACCATCAAGCATTATTTATCCGACTCCTGAT  
 GATGCATGGTTACTCACCCTGCGATCCCGGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGA  
 TGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTGATTCTGTTTGTAAATTGCTTTTTAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTCGCTCAG  
 GCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGTGACGAGCGTAATGGCTGGCTGTTGAACAAGTCTGAAAA  
 GAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCACTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTATTTTTGACGAGGGGAA  
 ATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATACCAGGATCTTGCCATCCTATGAACTGCCTCGGTGAGTTT  
 TCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTGATGCTCGATGAGT  
 TTTTCTAAGAATTAATTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGAAAA  
 GTGCCACCTGAAATTGTAACGTTAATATTTGTTAAAATTGCGGTTAAATTTTTGTTAAATCAGCTCATTTTTTAACCAATAGGCCGAAA  
 TCGGCAAAATCCCTTATAAATCAAAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGAAACAAGAGTCCACTATTAAGAAC  
 GTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCACTACGTGAACCATCACCTAATCAAGTTTTTTGGGG  
 TCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCCTAAAGGGAGCCCCGATTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGA  
 GAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTACGCTGCGCGTAACCACCACACCCG  
 CCGCGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTCCATTGCGCA

## 6. 订购信息及相关产品

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

