



pSmart I 载体

1. 产品介绍

酿酒酵母 SUMO 家族 SMT3 蛋白位于第四条染色体上, 是类泛素蛋白, 可以通过 SUMO 连接酶连接到目标蛋白的赖氨酸侧链上, 调节了细胞的染色体分节, DNA 复制等重要的生理过程。但对于做大肠杆菌原核表达的人来说, 它促进其它蛋白可溶性表达的能力, 才是更重要的性质。SUMO 蛋白本身分子量较小, 只有 98 个氨基酸残基, 比经典的 GST 蛋白小了一半以上, 融合表达时不会占用宿主太多资源。更完美的是: 它可以被 ULP 蛋白酶识别空间构象, 特异性的从融合蛋白上切除。在此之前只有泛素 (Ubiquitin) 融合表达系统有类似的性质。但是 SUMO 的促溶解性能远远高于 Ub, 当 SUMO 融合表达体系流行起来的时候, 已经很少有人记得曾经的 Ub 融合表达系统了。和传统的 GST, MBP, TRX 等经典的融合表达载体相比, SUMO 的确更有效。pSmart-I 载体是在 pET-28a 载体的基础上改造而来, 主要改造是将编码 SUMO 蛋白的核酸序列接入到 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。

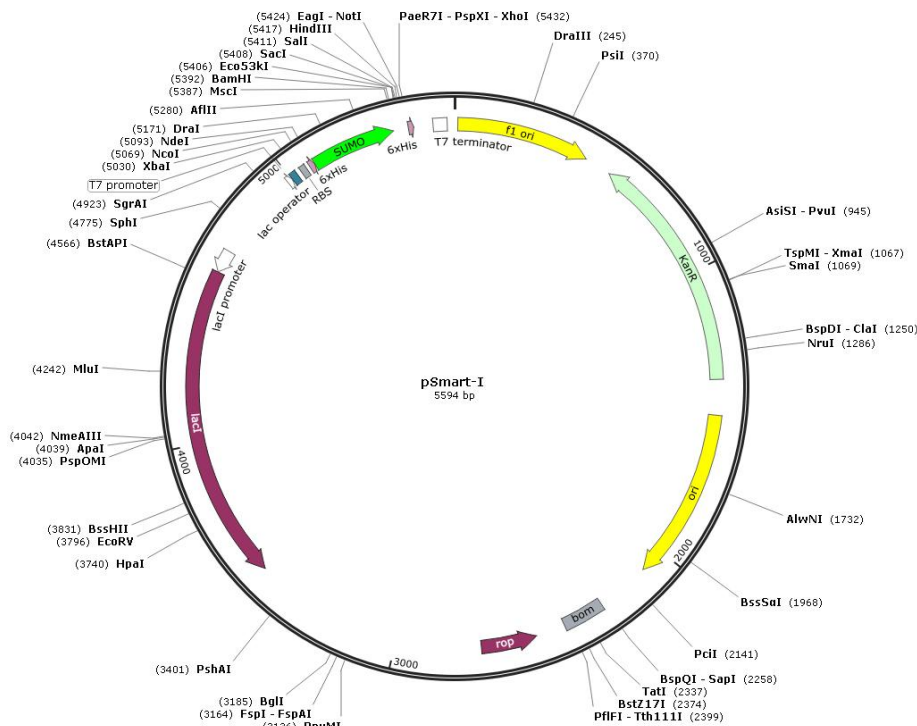


图 1 载体图谱

2. 多克隆位点

N-terminal-his6

ATGGGTCACCATCACCATCACCATATGTCGGACTCAGAAGTCAATCAAGAAGCTAAGCCAGAGGTCAAGCCAGAAGTCAAGCCTGAG
ACTCACATCAATTTAAAGGTGTCGATGGATCTTCAGAGATCTTCTTCAAGATCAAAAAGACCACTCCTTTAAGAAGGCTGATGGAAG
CGTTTCGCTAAAAGACAGGGTAAGGAAATGGACTCCTTAAGATTCTTGTACGACGGTATTAGAATTCAGCTGATCAGACCCCTGAAGA
TTTGGACATGGAGGATAACGATATTATTGAGGCTCACAGAGAACAGATTGGTGGC↓CAAGGATCCGAATTCGAGCTCCGTCGACAAG
CTTGCGGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCTGA multi-clonal sites BamH I, EcoR I, Sac I, Sa II, HindIII, Not I,
Xho I)

C-terminal-his6

多克隆位点中的 EcoR I 请不要使用, 因为 SUMO 序列中也有一个 EcoR I 序列, 并不是单一酶切位点。还要注意接入蛋白的读码框和 SUMO 的读码框需要重合, 上游酶切位点选择 BamH I, Sac I 均可。

3. 蛋白酶切位点

3.1 蛋白酶切位点

MGHHHHHHMSDSEVNQEAKPEVKPEVKPETHINLKVSDGSSEIFFKIKKTTPLRRLMEAFKRQKEMDSLRFlyDGIRIQADQTPEDLD
MEDNDIIEAHREQIGG↓QGS





N-端的 His6-tag 可以用于镍柱纯化, C-端 His6-tag 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 SUMO 蛋白酶切除, 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 Gln-Gly-Ser 三个冗余氨基酸残基。如果希望获得完全不带冗余氨基酸残基的目的蛋白, 请使用无缝克隆技术, 将蛋白序列直接接到 SUMO 序列的下游。注意: 酶切位点下游第一个氨基酸如果是脯氨酸 (Pro), 则很难切开! 其它残基效率有差异, 但是均可以切开。具体信息请参考我公司 SUMO 蛋白酶产品说明书。

3.2 SUMO 蛋白的一些性质:

SUMO 蛋白的实际分子量只有 13kDa 左右, 但是其表现分子量接近 20 kDa。因此, 融合蛋白表达条带通常在 SDS-PAGE 上会表现得大一些, 这是正常现象。SUMO 蛋白较为耐热, 80°C 加热 30 min, 并不能使其变性沉淀。

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 SUMO 的核酸序列以及在载体中的位置。

```
TGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAG
CGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCGCTCAAGCTCTAAATCGGGGGC
TCCCTTAGGGTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGCCATCGC
CCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTCCAACTGGAACAACACTCAACCC
TATCTCGGTCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTGCCGATTTCCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTAACGCG
AATTTTAAACAAATATTAACGTTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTTCTAAATAC
ATTCAAATATGTATCCGCTCATGAATTAATCTTAGAAAACTCATCGAGCATCAAATGAAACTGCAATTTATTCATATCAGGATTATCAAT
ACCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCATAGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCT
GCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATACAACCTATTAATTTCCCTCGTCAAAAATAAGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGAC
GACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGTTATGCATTTCTTCCAGACTTGTTCACAGGCCAGCCATTACGCTCGTCATCAAAATCA
CTCGCATCAACCAACCGTTATTCATTCGTGATTGCGCCTGAGCGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTAAAGGACAATTACAAACAG
GAATCGAATGCAACCGGCGCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTACCTGAATCAGGATATTCTTAATACCTGGAATGC
TGTTTTCCCGGGGATCGCAGTGGTGAATAACATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGATGGTGGGAAGAGGCATAAATTC
CGTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACCTTGCGCATCG
GGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTCGCACCTGATTGCCCGACATTATCGCGAGCCATTTATACCCATATAAATCAGCATCCATGTTG
GAATTTAATCGCGGCCTAGAGCAAGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATAACACCCCTTGATTACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTT
TATTGTTTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGAT
CCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAACAAAAAACCCCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGATCAAGAGCTACCA
ACTTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTACAGCAGAGCGCAGATACCAAACTACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCA
AGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTACCG
GGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGC
GAACGACCTACACCGAAGTGAATACCTACAGCGTGAAGTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGAT
CCGGTAAGCGGCAGGGTGGAAACAGGAGAGCGCAGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGT
TTCCGCACCTCTGACTTGAGCGTGCATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTT
TTACGGTTCTGCGCTTTTGTGCTGCGCTTTTGTGCTCACATGTTCTTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTT
TGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCGAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAAGTGAAGCGGAAAGCGGAAGAGCGCCTGATGCG
GTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAG
CCAGTATACACTCCGCTATCGCTACGTGACTGGTTCATGGCTGCGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGG
CTTGTCTGCTCCCGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGTTTTACCCGTCATACCCG
AAACGCGCGAGGCAGCTGCGGTAAAGCTCATCAGCGTGGTTCGTGAAGCGATTACAGATGTCTGCCTGTTTCATCCGCTCCAGCTC
GTTGAGTTTTCTCCGAAGCGTTAATGTCTGGCTTCTGATAAAGCGGGCCATGTTAAGGGCGGTTTTTCTGTTTGGTCACTGATGCC
TCCGTGTAAGGGGGATTTCTGTTTCATGGGGTAATGATACCGATGAAACGAGAGAGGATGCTCACGATACGGTTACTGATGATGAA
CATGCCCGGTTACTGGAACGTTGTGAGGGTAAACAACCTGGCGGTATGGATGCGGCGGGACCAGAGAAAAATCACTCAGGGTCAATG
CCAGCGCTTCGTTAATACAGATGTAGGTGTTCCACAGGGTAGCCAGCAGCATCCTGCGATGCAGATCCGGAACATAATGGTGCAGGG
CGTGACTTCCGCTTTCCAGACTTTACGAAACACGGAACCGAAGACCATTGTTGTTGCTCAGGTCGCAGACGTTTTGCAGCA
```





GCAGTCGCTTCACGTTTCGCTCGCGTATCGGTGATTCATTCTGCTAACCAAGTAAGGCAACCCCGCCAGCCTAGCCGGTCTCAACG
 ACAGGAGCACGATCATGCGCACCCGTGGGGCCGCCATGCCGGCGATAATGGCCTGCTTCTCGCCGAAACGTTTGGTGGCGGGACC
 AGTGACGAAGGCTTGAGCGAGGGCGTGAAGATTCCGAATACCGCAAGCGACAGGCCGATCATCGTCGCGCTCCAGCGAAAGCGG
 TCCTCGCCGAAAATGACCCAGAGCGCTGCCGGCACCTGTCTACGAGTTGCATGATAAAGAAGACAGTCATAAGTGCGGCGACGAT
 AGTCATGCCCCGCGCCACCAGGAGGAGCTGACTGGGTTGAAGGCTCTCAAGGGCATCGTTCGAGATCCCGGTGCCTAATGAGTG
 AGCTAACTTACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTCCAGTCGGGAAAACCTGTGTCGTCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAA
 CGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTCGCTATTGGGCGCCAGGGTGGTTTTTCTTTCCACAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTC
 ACCGCCTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGCCCCAGCAGGGCGAAAATCCTGTTTGGTGGTTAACG
 GCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGG
 CGCGCATTGCGCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATTGACATTTGCATGGTTTGT
 GAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCTTCCCGTTCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATTTATGCCAGCCAGCCA
 GACGCAGACGCGCCGAGACAGAATTAATGGGCCCGCTAACAGCGCGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCC
 CAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAAATAACGCCGGAACATTAGTG
 CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTATCCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTG
 CACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACCGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAA
 TCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTT
 GTTGTGCCACGCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGCGTTTTTCGAGAAAACGTTGGCTGGCC
 TGGTTCACCACGCGGGAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTCACATTCACCACC
 CTGAATTGACTCTCTTCCGGGCGCTATCATGCCATACCGCGAAAGGTTTTGCGCCATTGATGGTGTCCGGGATCTCGACGCTCTCC
 CTTATGCGACTCCTGCATTAGGAAGCAGCCCAGTAGTAGTTGAGGCCGTTGAGCACCGCCGCGCAAGGAATGGTGCATGCAAGG
 AGATGGCGCCCAACAGTCCCCCGCCACGGGGCCTGCCACCATACCCACGCCGAAACAAGCGCTCATGAGCCCGAAGTGGCGAG
 CCCGATCTTCCCATCGGTGATGTCGGCGATATAGGCCAGCAACCGCACCTGTGGCGCCGGTATGCCGGCCACGATGCGTCC
 GCGGTAGAGGATCGAGATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAAA
 TAATTTGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACCATGGGTCAACATCACCATCACCATATGTCGGACTCAGAAGTCAATCAAGAAGCTAA
 GCCAGAGGTCAAGCCAGAAGTCAAGCCTGAGACTCACATCAATTTAAAGGTGTCCGATGGATCTTCAGAGATCTTCTCAAGATCAA
 AAAGACCACTCCTTTAAGAAGGCTGATGGAAGCGTTCGCTAAAAGACAGGGTAAGGAAATGGACTCCTTAAGATTCTTGACGACGG
 TATTAGAATCAAGCTGATCAGACCCCTGAAGATTTGGACATGGAGGATAACGATATTATTGAGGCTCACAGAGAACAGATTGGTGGC
 CAAGGATCCGAATTCGAGCTCCGTCGACAAGCTTGCGGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCAGACTGAGATCCGGCTGCTAAC
 AAAGCCCAGAAAGGAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAACGGGTCTTGAG
 GGGTTTTTGTCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGAT

6. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
pSmart I	SLP023	100 ng/μl, 10 μl

