

碧云天原核蛋白表达纯化服务介绍

Prokaryotic Protein Expression and Purification Services



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology

订购热线：400-168-3301或800-8283301

技术咨询：info@beyotime.com

技术服务：service@beyotime.com

网址：<http://www.beyotime.com>

碧云天原核蛋白表达纯化服务

Outline

1 服务介绍

2 服务优势

3 原核表达系统

4 蛋白纯化

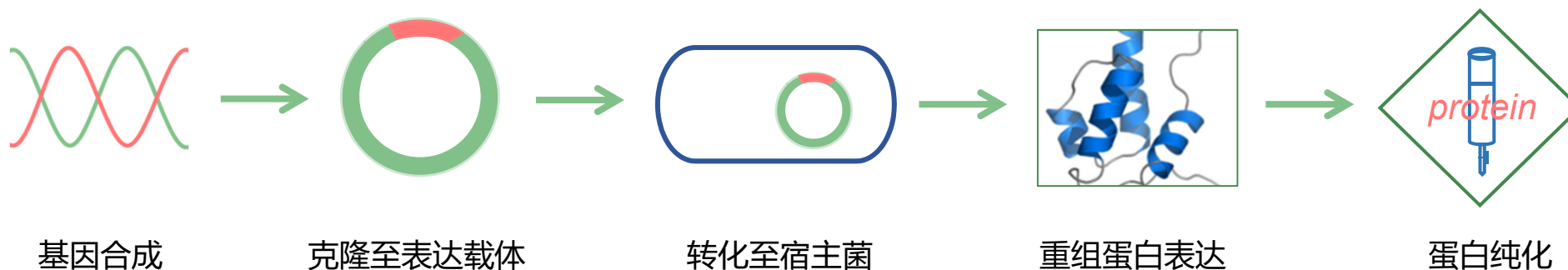
5 服务流程

6 服务内容

碧云天原核蛋白表达纯化服务介绍

概述

- 碧云天的原核蛋白表达纯化技术服务是将目的基因插入合适载体后导入原核细胞 (主要是大肠杆菌) 用于表达和纯化大量蛋白质的服务，所得蛋白质也称为重组蛋白 (recombinant protein)。



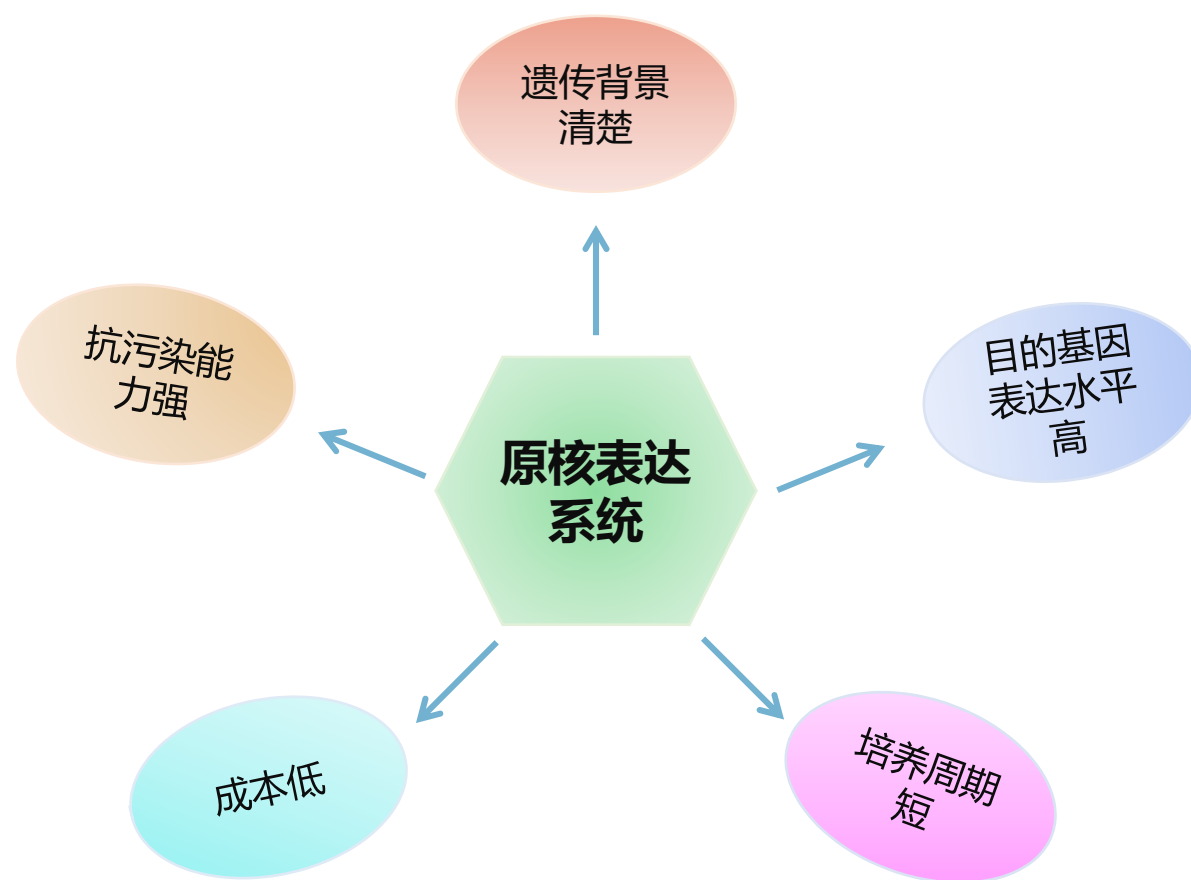
碧云天原核蛋白表达纯化服务优势

碧云天的五大优势

- **技术新**——碧云天拥有最新的密码子优化技术，创新性的长片段基因快速合成技术，蛋白高表达和高溶解度新技术，以及最新的蛋白变性、复性以及多种蛋白纯化新技术。。
- **经验足**——碧云天有多年的蛋白表达纯化经验，已经完成了大量蛋白的表达纯化和商品化销售。
- **标准严**——碧云天提供高质量的蛋白表达纯化服务，严格的质量控制体系，可满足您对蛋白的纯度高、活性强等需求。交付的蛋白纯度一般在80%以上，很多能达到90%以上的纯度。
- **服务全**——选择多样化，您可以根据自身的科研需求，自由组合套餐或一站式服务。
- **周期短**——从基因合成到获得高纯度重组蛋白一般仅需25-40个工作日。
- **价格低**——碧云天以最优惠的价格为您提供最全面的服务，帮助您有效节约实验成本。

原核蛋白表达系统的优势

经典的蛋白表达系统



原核蛋白表达技术介绍

常见启动子

常见启动子

启动子	类型	转录水平
λpL	热诱导启动子	强
<i>trp</i>	化学诱导启动子	强
<i>tac</i>	trp+lacUV5杂合启动子	强
<i>trc</i>	trp+lac杂合启动子	强
T7/T7 <i>lac</i>	pET	非常强

原核蛋白表达技术介绍

融合标签

● 融合标签

- 方便后继的纯化步骤或者检测
- 对于特别小的分子建议用较大的Tag(如GST)以获得稳定表达;而一般的基因多选择小Tag以减少对目的蛋白的影响

常用融合标签	所属系统
His·Tag	pET系统
GST·Tag	pGEX系统
MBP·Tag	pMal系统

原核蛋白表达技术介绍

筛选标记/报告基因

■ 筛选标记/报告基因

- 常用的筛选标记：氨苄青霉素(Amp)，卡那霉素(Kan)
- 常用的报告基因：绿色荧光蛋白(GFP)，半乳糖苷酶，萤光素酶

原核蛋白表达技术介绍

常用载体系统

常用载体系统

载体	启动子	抗性	标签	特点
pET	T7/T7lac	Amp Kan	His·Tag	标签小，无需切割，不影响蛋白活性，纯化方便
pGEX	tac	Amp	GST·Tag	可溶性表达，通常需要去除标签，谷胱甘肽一步洗脱，纯化难以控制，蛋白纯度较低
pMal	tac	Amp	MBP·Tag	可溶性表达，通常需要去除标签，麦芽糖一步洗脱，纯化难以控制，蛋白纯度较低

原核蛋白表达技术介绍

常用表达菌株

表达菌株	特点
BL21(DE3)	适用于非毒性基因的表达
BL21(DE3)PLysS	严谨调控毒基因的表达
Rosetta	补充稀有密码子，提高外源基因的表达水平
Origami	有利于二硫键的形成，增加蛋白溶解性

选择表达菌株通常考虑：蛋白稳定性、基因毒性、启动子以及抗性的选择。

原核蛋白表达技术介绍

表达条件的优化

常用表达条件的优化

- 温度
- 培养基
- OD值
- 诱导剂种类、浓度，诱导时间
- 培养体积、溶氧量

蛋白纯化技术介绍

蛋白纯化的标签选择

蛋白纯化标签选择

融合标签	大小(kD)	功能	是否切除
HIS	0.84	有利于纯化，能纯化可溶性/包涵体蛋白	标签较小，对蛋白影响不大，一般无需切除
GST	26	增加蛋白可溶性，能纯化可溶性蛋白，屏蔽毒性蛋白	标签较大，影响较大，通常需要去除
MBP	44.4	增加蛋白可溶性，屏蔽毒性蛋白	
NusA	55	增加蛋白可溶性，屏蔽毒性蛋白	
SUMO	11.2	增加蛋白可溶性，屏蔽毒性蛋白	

蛋白纯化技术介绍

常用的纯化方法

常用纯化方法

- 亲和层析

- ◆ 如：HIS-Tag使用Ni-IDA/Ni-NTA进行金属螯合亲和层析。

- 离子交换色谱

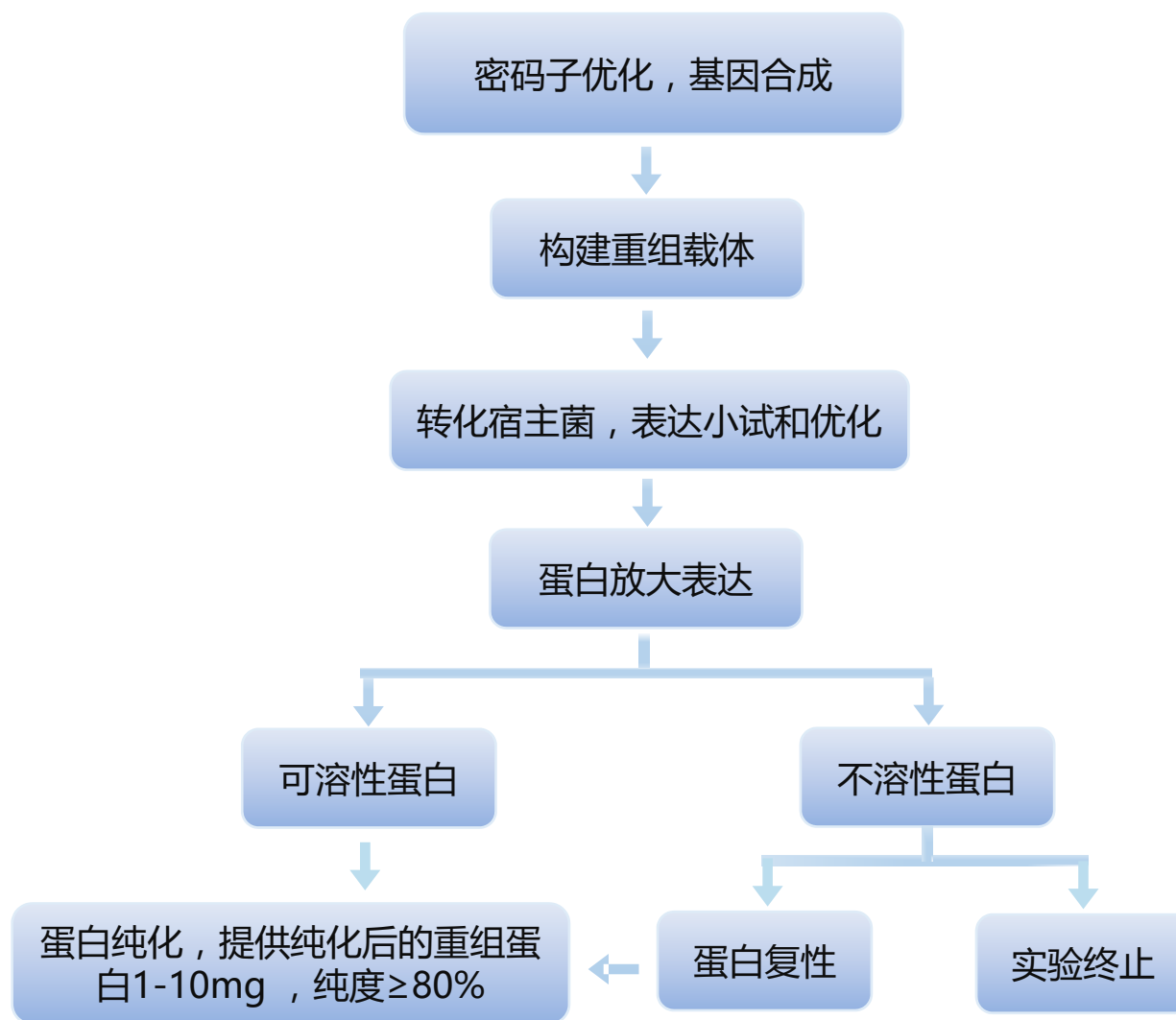
- ◆ 不同蛋白所带电荷不同，其与离子交换剂结合能力不同，因此被洗脱的顺序也不同，从而得到分离。

- 凝胶过滤层析

- ◆ 应用蛋白质分子量或分子形状差异分离。分子量不同进入凝胶颗粒保留的时间不同，分子量越大，流出越早，从而分离分子大小不同的蛋白质。

碧云天原核蛋白表达纯化服务

服务流程



碧云天原核蛋白表达纯化服务

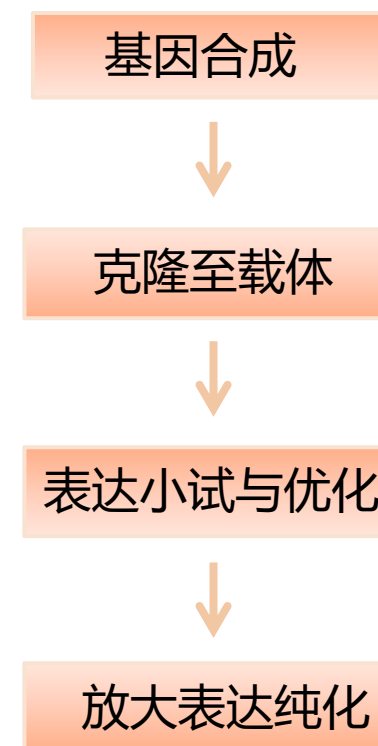
服务内容

● 客户提供

- ◆ 目的蛋白的基本信息或基因序列
- ◆ 若非人、小鼠或大鼠的基因，还需提供含有该基因的cDNA或含有该基因的组织样品
- ◆ 表达质粒、表达菌株及表达条件(可选择由碧云天提供)

● 碧云天交付

- ◆ 重组表达质粒、重组表达菌株、纯化后的重组蛋白
- ◆ 蛋白表达项目报告，包括测序验证报告、小试验证报告、纯化报告、相关图片及简明实验步骤



Thank you!



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology

订购热线：400-168-3301或800-8283301

技术咨询：info@beyotime.com

技术服务：service@beyotime.com

网址：<http://www.beyotime.com>