

Prokaryotic Protein Expression and Purification Services



碧云天
Beyotime



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>

服务介绍

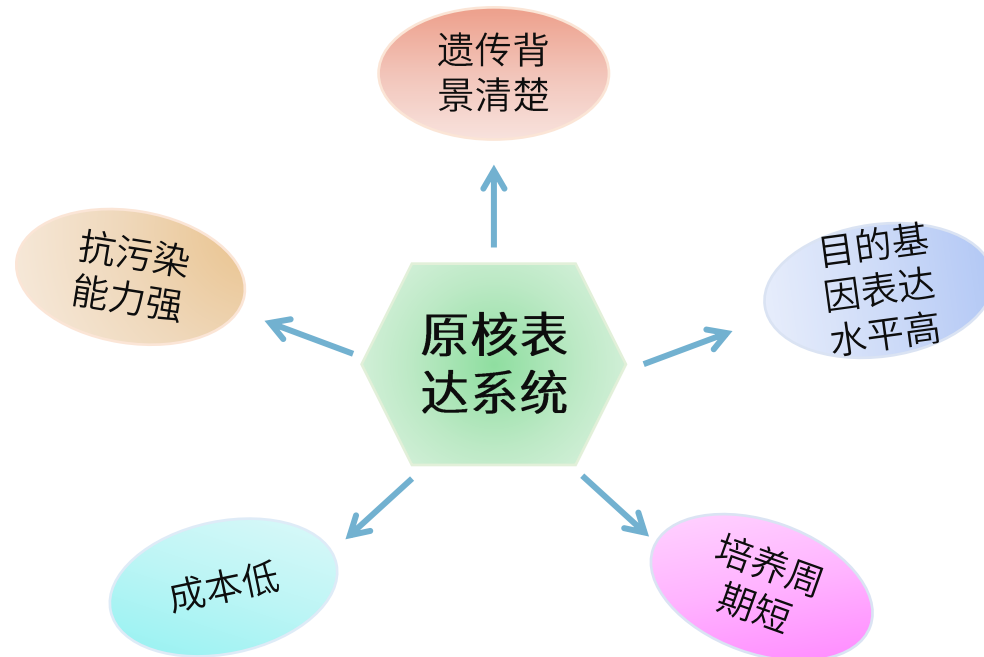
- 碧云天的原核蛋白表达纯化技术服务是将目的基因插入合适载体后导入原核细胞(主要是大肠杆菌)用于表达和纯化大量蛋白质的服务，所得蛋白质也称为重组蛋白(recombinant protein)。
- 碧云天拥有成熟稳定的蛋白表达纯化系统，可提供定制化或一站式原核蛋白表达服务，用户仅需提供目的基因序列，碧云天完成基因设计、密码子优化、基因合成、载体构建(亚克隆)、蛋白少量表达及可溶性测试、蛋白大量表达、交付成品及报告等整套服务。所制备的重组蛋白可用于细胞生物学、分子生物学、抗体制备、药物筛选、蛋白质组学、结构生物学等一系列生物医学领域的研究和应用。

服务优势

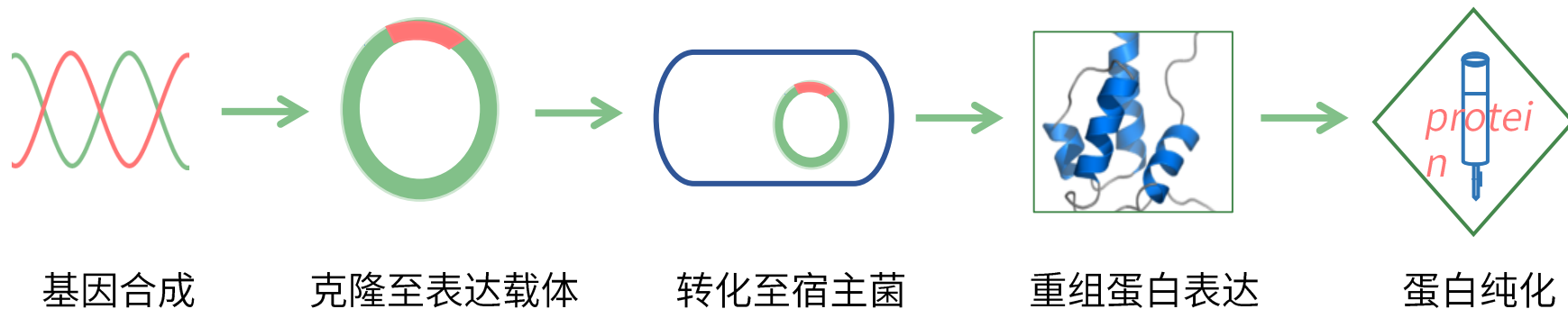
- **技术新** —— 碧云天拥有成熟的密码子优化技术，多年的表达纯化经验，使基因表达和蛋白溶解度达到最高水平。
- **标准严** —— 碧云天拥有成熟的密码子优化技术，多年的表达纯化经验，使基因表达和蛋白溶解度达到最高水平。
- **服务全** —— 选择多样化，您可以根据自身的科研需求，自由组合套餐或一站式服务。
- **周期短** —— 从基因合成到获得高纯度重组蛋白一般仅需25-40个工作日。
- **价格低** —— 碧云天以最优惠的价格为您提供最全面的服务，帮助您有效节约实验成本。

原核表达系统

- 原核表达系统是发展最早、应用最广、研究最成熟的经典蛋白表达系统。在基因表达技术中占有非常重要的地位，已成为细胞生物学、分子生物学等研究领域中的重要工具。与哺乳动物细胞、酵母、昆虫等表达系统相比，具有以下优势：



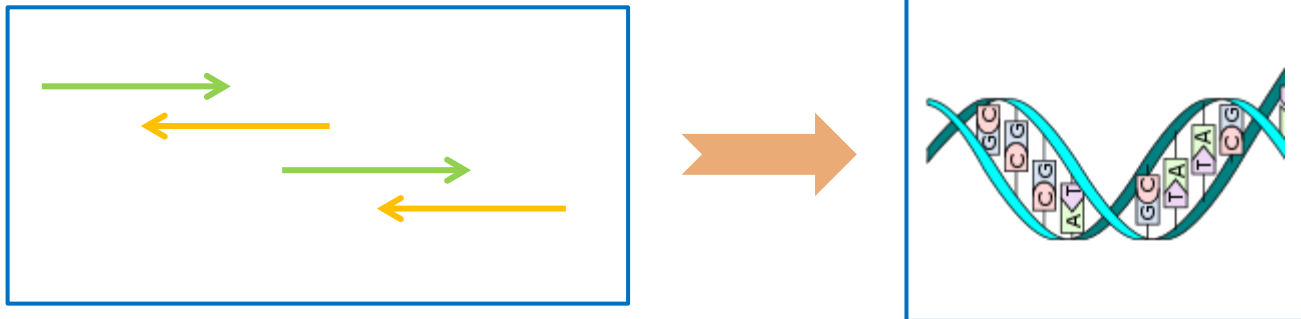
原核蛋白表达纯化主要步骤



基因——载体——菌株——表达——纯化

基因合成

- 碧云天基因合成技术是利用生物化学的方法将人工合成的寡核苷酸拼接成基因。
- 基本原理
 - 将要合成的基因分成若干引物，使每对相邻互补的引物之间存在交叉重叠，再通过PCR扩增获得完整的序列。



原核表达系统

➤ 表达载体

- 启动子
- 融合标签
- 筛选标记/报告基因
- 常用表达载体系统

➤ 表达菌株

表达载体

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/T7lac	pET(Novagen)	非常强

表达载体

➤ 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	
His●Tag	pET系统
GST●Tag	pGEX系统
MBP●Tag	pMal系统

原核表达系统

➤ 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，荧光素酶

原核表达系统

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

表达菌株

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。

表达菌株

➤ 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

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

➤ 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。

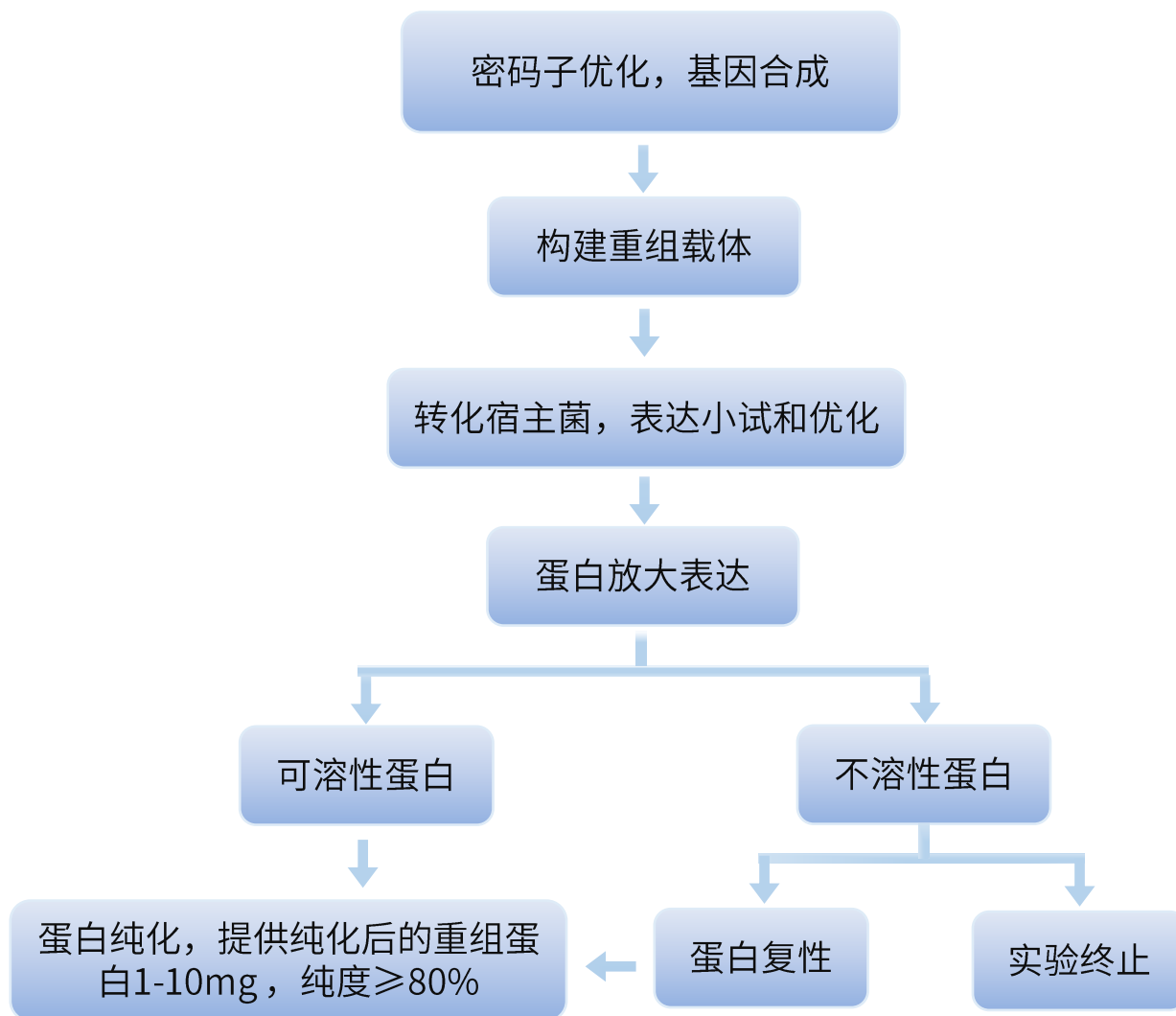
- 离子交换色谱

- 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

服务流程



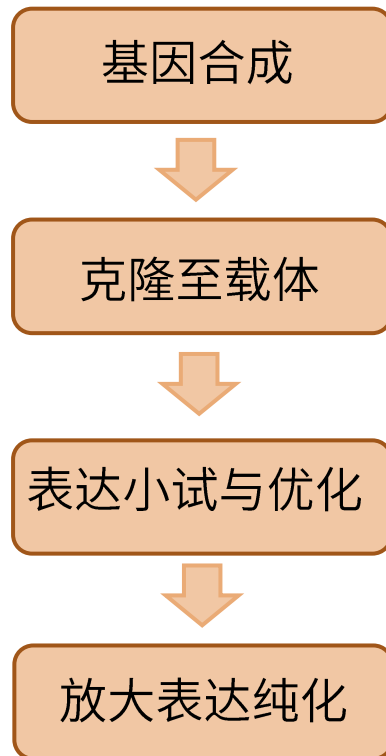
服务内容

➤ 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，简明实验步骤



Thank You

谢谢

上海碧云天生物技术有限公司



碧云天
Beyotime



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
Beyotime