

附表:

附表 1 促融标签及载体骨架的引物

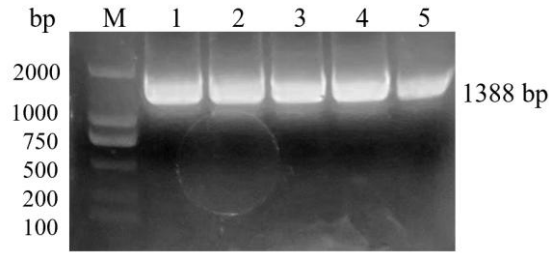
Table 1 Primers for promoting fusion tags and carrier skeletons

引物名称	引物描述	序列 5'–3'
IL-27-F	扩增 IL-27	CGGATAACAATTCCCCTCTAGAAATAATTTTGTTTAACTTTAAGAA GGAGATATACATATGCGTAAAGGTCCGCCGGCAGCATTAAAC
IL-27-R	扩增 IL-27	GATGATGATGAGGTTGAGGACTCAGGGTC
菌 P-F	菌 P 验证	CCGGCGTAGAGGATCGAGAT
菌 P-R	菌 P 验证	TCGTCGTCGGTACCCAGATC
XXA-IL27-F	扩增 XXA 标签	CGGATAACAATTCCCCTCTAGAAATAATTTTGTTTAACTTTAAGAA GGAGATATACATATGGGATCCCCGAAACTGCGTGA
XXA-IL27-R	扩增 XXA 标签	CTCGAGCATCTGATCTTCACTCAGTG
XXA 骨架-F	扩增 XXA 骨架	GAAGATCAGATGCTCGAGGAAAACCTGTACTTCCAATCCCGTAA AGGTCCGCCGGCAGCATTAA
XXA 骨架-R	扩增 XXA 骨架	GAGGGGAATTGTTATCCGCTCACAAAT
Sumo-IL27-F	扩增 sumo 标签	CGGATAACAATTCCCCTCTAGAAATAATTTTGTTTAACTTTAAGAA GGAGATATACATATGATGAGCGATAGCGAAGTTAATCAGGAAGC
Sumo-IL27-R	扩增 sumo 标签	ACCACCGATCTGTTCCGCGGT
Sumo 骨架-F	扩增 sumo 骨架	CGAACAGATCGGTGGTGAACCTGTACTTCCAATCCCGTAAAG GTCCGCCGGCAGCATTAA
Sumo 骨架-R	扩增 sumo 骨架	GAGGGGAATTGTTATCCGCTCACAAAT
Nusa-IL27-F	扩增 Nusa 标签	CGGATAACAATTCCCCTCTAGAAATAATTTTGTTTAACTTTAAGAA GGAGATATACATATGATGAACAAAGAAATTTGGCTGTAGTTGAA GCCG
Nusa-IL27-R	扩增 Nusa 标签	GCTTCGTACCGAACCAGCAA
Nusa 骨架-F	扩增 Nusa 骨架	TGGTTCGGTGACGAAGCGGAAAACCTGTACTTCCAATCCCGTAA AGGTCCGCCGGCAGCATTAA
Nusa 骨架-R	扩增 Nusa 骨架	GAGGGGAATTGTTATCCGCTCACAAAT
GST-IL27-F	扩增 GST 标签	CGGATAACAATTCCCCTCTAGAAATAATTTTGTTTAACTTTAAGAA GGAGATATACATATGATGAGCCCGATTCTGGGTTATTGG

GST-IL27-R	扩增 GST 标签	TTTCGGCGGATGATCACCACCA
GST 骨架-F	扩增 GST 骨架	GGTGATCATCCGCCGAAA ^g AAAAACCTGTACTTCCAATCCCGTAAA GGTCCGCCGGCAGCATTAA
GST 骨架-R	扩增 GST 骨架	GAGGGGAATTGTTATCCGCTCACAAT
MBP-IL27-F	扩增 MBP 标签	CGGATAACAATCCCCTCTAGAAATAATTTGTTAACTTTAAGAA GGAGATATACATATGATGAAAATCGAAGAAGGTA ^g AACTGGTAATC TGG
MBP-IL27-R	扩增 MBP 标签	CGTCTTTCAGGGCTTCATCGACAG
MBP 骨架-F	扩增 MBP 骨架	GAAGCCCTGAAAGACGCGCAGACTGAAAACCTGTACTTCCAATC CCGTAAAGGTCCGCCGGCAGCATTAA
MBP 骨架 R	扩增 MBP 骨架	GAGGGGAATTGTTATCCGCTCACAAT
Trxa-IL27-F	扩增 Trxa 标签	TTCTCGACGCTAACCTGGCCCTGGTGCCGCGCGGCAGCCGTAA AGGTCCGCCGGCAGCATTAAAC
Trxa-IL27-R	扩增 Trxa 标签	CACCACCACCTTTACCCAGGCTCA
Trxa 骨架-F	扩增 Trxa 骨架	TGGGTAAAGGTGGTGGTGGTAGCGGTGGTGGTGGTAGCGGTGGT GGTGGTAGTTTTCCGCGTCCGCCTGGT
Trxa 骨架-R	扩增 Trxa 骨架	GCCAGGTTAGCGTCGAGGAACTCTT

2.1 IL-27 融合基因的构建与验证

补充材料附图 1:



M: DL2000 DNA marker; 1-5: IL-27 PCR 扩增产物

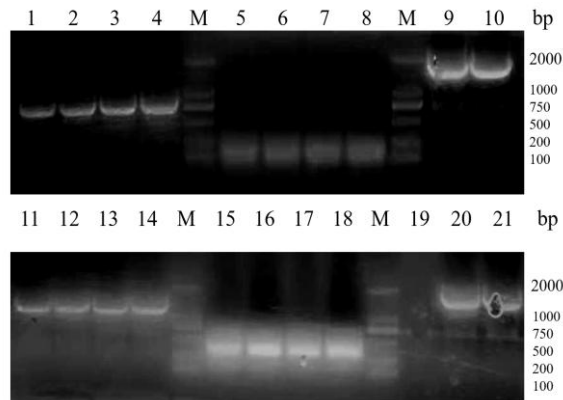
M: DL2000 DNA marker; 1-5: PCR product of IL-27

附图 1 IL-27 琼脂糖凝胶电泳验证

Fig.S1 Verification of IL-27 agarose gel electrophoresis

2.3 促融标签对 IL-27 可溶性表达的影响

补充材料附图 2:



1-2: XXA-IL (649bp); 3-4: GST-IL27 (715bp); 5-8: Sumo-IL(355bp); 9-10 和 20-21: Nusa-IL27(1545bp); 11-14: MBP-IL27(1154bp); 15-18: Trxa-IL27(390bp); M: DL2000 DNA marker

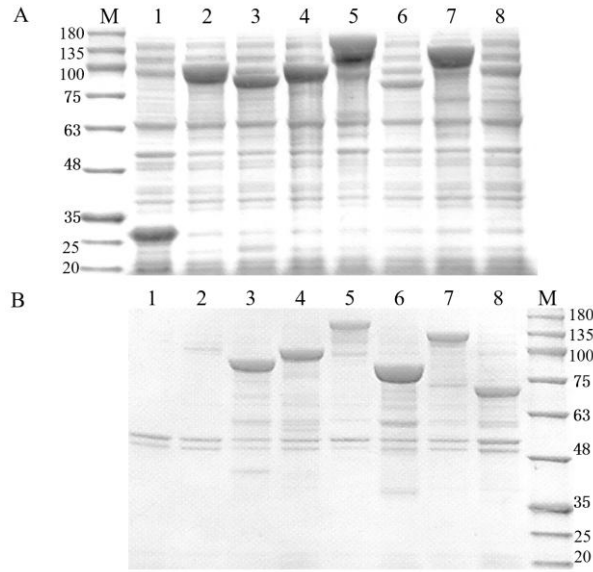
1-2: XXA-IL (649 bp); 3-4: GST-IL27 (715 bp); 5-8: Sumo-IL (355 bp); 9-10 and 20-21: Nusa-IL27 (1545 bp); 11-14: MBP-IL27(1154bp); 15-18: Trxa-IL27(390bp); M: DL2000 DNA marker

附图 2 PCR 扩增不同标签琼脂糖凝胶电泳验证

Fig.S2 Verification of agarose gel electrophoresis with different tags amplified by PCR

2.3 促融标签对 IL-27 可溶性表达的影响

为了明确目的融合蛋白在大肠杆菌中的表达分布，并排除内源性背景蛋白的干扰，我们补充了在相同实验条件（宿主菌株、诱导条件、高压匀浆破碎及洗涤步骤）下对 pET-32a(+) 空载体裂解液的上清与沉淀进行了平行对照分析。比对结果进一步确认，实验组沉淀中显著增加的条带确为重组蛋白包涵体，而非未破碎的细胞或杂蛋白。



(A)胞内上清组分; (B)胞内沉淀组分。M: Protein marker; 1: pET-32a(+)空载体对照 (对照组); 2: XXA-IL-27 (70 kD); 3: SUMO-IL-27 (62 kD); 4: GST-IL-27 (76 kD); 5: NusA-IL-27 (105 kD); 6: TrxA-IL-27 (62 kD); 7: MBP-IL-27 (91 kD); 8: IL-27 (54 kD)

(A) Soluble fraction; (B) Insoluble fraction. M: Protein marker; 1: pET-32a(+) empty vector control; 2: XXA-IL-27 (70 kD); 3: SUMO-IL-27 (62 kD); 4: GST-IL-27 (76 kD); 5: NusA-IL-27 (105 kD); 6: TrxA-IL-27 (62 kD); 7: MBP-IL-27 (91 kD); 8: IL-27 (54 kD)

附图 3 不同促溶标签对 IL-27 重组蛋白在大肠杆菌中可溶性表达的影响

Fig.S3 Effects of different solubility-enhancing tags on the soluble expression of recombinant IL-27 in *E. coli*