

pGLuc-Dura-miR (报告基因质粒)

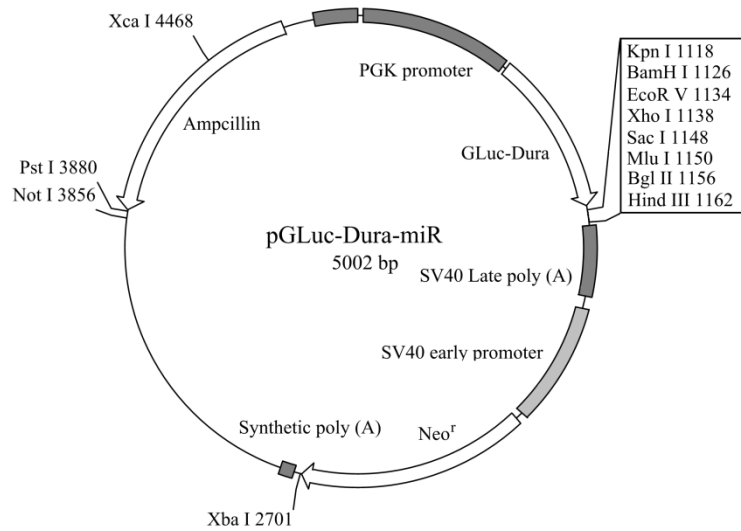
产品编号	产品名称	包装
D2107-1 μ g	pGLuc-Dura-miR (报告基因质粒)	1 μ g
D2107-100 μ g	pGLuc-Dura-miR (报告基因质粒)	100 μ g

产品简介:

- pGLuc-Dura-miR (报告基因质粒)是碧云天自行研发的一种用于microRNA (miRNA)等研究的分泌型、高稳定性、非ATP依赖的Gaussia-Dura Luciferase (Gluc-Dura) 萤光素酶报告基因质粒。该报告基因质粒可用于把目的基因的3'非翻译区(3'-untranslated region, 3'-UTR)或其它适当序列插入到其多克隆位点, 然后在哺乳动物细胞中高灵敏度地检测特定microRNA (miRNA)或其它非编码RNA等对该基因3'-UTR或其它靶序列调控活性的报告基因质粒。
- pGLuc-Dura-miR以碧云天的pGLuc-Dura质粒为模板, 具有氨苄青霉素抗性, 并在Gaussia-Dura Luciferase萤光素酶基因之后添加了多克隆位点, 便于插入目的基因的3'-UTR或其它适当的靶序列。
- pGLuc-Dura-miR的主要工作原理是, 把目的基因的3'非翻译区或其它适当序列插入到Gaussia-Dura Luciferase萤光素酶基因的下流, 转染细胞并检测Gaussia-Dura Luciferase萤光素酶的表达。如果细胞内源或外源表达的miRNA与靶序列结合, 通常会抑制Gaussia-Dura Luciferase萤光素酶的翻译或促进mRNA的降解, 从而使Gaussia-Dura Luciferase萤光素酶的表达量减少。因此通过本报告基因质粒检测Gaussia-Dura Luciferase萤光素酶的表达水平, 可以检测内源或外源表达的miRNA是否对插入的靶序列有调控作用。并且可以通过靶序列中预测的miRNA结合位点的突变, 用于比较突变前后Gaussia-Dura Luciferase萤光素酶表达水平的变化。如果预测的miRNA位点突变后, miRNA的调控作用消失, 则基本上说明突变的位点就是miRNA在靶序列中具体的结合位点。
- Gaussia Luciferase是分离于夏威夷水域的一种大型海洋桡脚类(*Copepod*)动物(*Gaussia princeps*)的新型萤光素酶。Gaussia Luciferase为单条肽链的单体酶, 其分子量较小(20kD), 且具有分泌性信号肽, 可通过内质网分泌到细胞外。因此在使用Gaussia Luciferase的报告基因载体转染哺乳动物细胞进行表达时, 无需裂解细胞, 可直接使用细胞培养基上清进行萤光素酶活性的实时检测(当然也可以进行细胞裂解以分析细胞裂解中的萤光素酶活性)。
- Gaussia Luciferase萤光素酶催化底物腔肠素的氧化反应并且发光(480nm)。与其他萤光素酶相比, 使用Gaussia Luciferase作为报告基因有更多的优势: 分泌型萤光素酶, 可直接取上清检测, 无须裂解细胞; 发光强度高, 是其它萤光素酶的1000倍; 反应无须ATP, 不受ATP影响; 稳定性高, 对温度、pH值等耐受性强。
- 与野生型Gaussia Luciferase相比, 突变型Gaussia-Dura Luciferase在哺乳动物细胞中进行表达时, 不仅保留了Gaussia Luciferase的优势和特点, 还具有更高的蛋白表达水平和更好的萤光稳定性。
- pGLuc-Dura-miR带有中低等强度的PGK启动子, 有利于检测miRNA等对于Gaussia-Dura Luciferase萤光素酶表达水平的下调作用, 即当miRNA的抑制作用较弱时也能检测到。并且PGK启动子可以在人、大鼠、小鼠甚至酵母细胞中都可以发挥作用。
- 萤光素、萤光素酶、萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶也经常被称为荧光素、荧光素酶、萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶。
- pGLuc-Dura-miR质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
PGK promoter	20-538
GLuc (MT) reporter gene	549-1106
Multiple cloning region	1113-1166
SV40 late poly (A) signal	1173-1417
SV40 early enhancer/promoter	1459-1877
Synthetic neomycin phosphotransferase (Neo ^r) coding region	1903-2697
Synthetic poly (A) signal	2722-2770
Synthetic Beta-lactamase (Amp ^r) coding region	3885-4745
Synthetic poly (A) signal/transcriptional pause site	4850-5002

- pGLuc-Dura-miR质粒(5002bp)的图谱如下:



➤ pGLuc-Dura-miR的详细图谱如下:

GLuc (MT) reporter

```

541  GCTAGCTTAT GGGAGTCAAA GTTCTGTTTG CCCTGATCTG CATCGCTGTG
      CGATCGAATA CCCTCAGTTT CAAGACAAAC GGGACTAGAC GTAGCGACAC

591  GCCGAGGCCA AGCCACCGA GAACAACGAA GACTTCAACA TCGTGGCCGT
      CGGCTCCGGT TCGGGTGGCT CTTGTTGCTT CTGAAGTTGT AGCACCGGCA

641  GGCCAGCAAC TTCGCGACCA CGGATCTCGA TGCTGACCGC GGGAAAGTTGC
      CCGGTCGTTG AAGCGCTGGT GCCTAGAGCT ACGACTGGCG CCCTTCAACG

691  CCGGCAAGAA GCTGCCGCTG GAGGTGCTCA AAGAGTTGGA AGCCAATGCC
      GGCCGTTCTT CGACGGCGAC CTCCACGAGT TTCTCAACCT TCGGTTACGG

741  CGGAAAGCTG GCTGCACCAG GGGCTGTCTG ATCTGCCTGT CCCACATCAA
      GCCTTTCGAC CGACGTGGTC CCCGACAGAC TAGACGGACA GGGTGTAGTT

791  GTGCACGCCC AAGATGAAGA AGTTCATCCC AGGACGCTGC CACACCTACG
      CACGTGCGGG TTCTACTTCT TCAAGTAGGG TCCTGCGACG GTGTGGATGC

841  AAGGCGACAA AGAGTCCGCA CAGGGCGGCA TAGGCGAGGC GATCGTCGAC
      TTCCGCTGTT TCTCAGGCGT GTCCCGCCGT ATCCGCTCCG CTAGCAGCTG

891  ATTCTTGAGA TTCCTGGGTT CAAGGACTTG GAGCCCTTGG AGCAGTTCAT
      TAAGGACTCT AAGGACCCAA GTTCCTGAAC CTCGGGAACC TCGTCAAGTA

941  CGCACAGGTC GATCTGTGTG TGGACTGCAC AACTGGCTGC CTCAAAGGGC
      GCGTGTCCAG CTAGACACAC ACCTGACGTG TTGACCGACG GAGTTTCCCG

991  TTGCCAACGT GCAGTGTCTT GACCTGCTCA AGAAGTGGCT GCCGCAACGC
      AACGGTTGCA CGTCACAAGA CTGGACGAGT TCTTCACCGA CGGCGTTGCG

1041 TGTGCGACCT TTGCCAGCAA GATCCAGGGC CAGGTGGACA AGATCAAGGG
      ACACGCTGGA AACGGTCGTT CTAGGTCCCG GTCCACCTGT TCTAGTTCCC

      KpnI  NheI  BamHI  EcoRV  XhoI
1091  GGCCGTTGGT GACTAAAGAT CCGGTACCGT TAGCGGATCC GATATCCTCG
      CCGGCCACCA CTGATTCTTA GGCCATGGCG ATCGCCTAGG CTATAGGAGC

      SacI  MluI  BglII  HindIII
1141  AGGAGCTCAC GCGTAGATCT AAGCTTCGAT CTCGGCCGGC
      TCCTCGAGTG CGCATCTAGA TTCGAAGCTA GAGCCGCGCC
  
```

➤ pGLuc-Dura-miR中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pGLuc-Dura-miR)包括:

AatII	AclI	AflII	AscI	AseI	AsiSI	BsaAI
BsaI	BsiWI	BsrGI	BssHII	CspCI	DraIII	EcoRI
NdeI	PacI	PflFI	PflMI	PmeI	PmlI	RsrII
SbfI	SmaI	SnaBI	SrfI	SwaI	TspMI	Tth111I
XcmI	XmaI	ZraI				

➤ pGLuc-Dura-miR中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pGLuc-Dura-miR)包括:

Acc65I	G`GTAC,C	1113	EcoRV	GAT ATC	1134
AleI	CACNN NNGTG	3877	FspI	TGC GCA	1460
ApaI	G,GGCC`C	1972	HindII	A`AGCT,T	1162
ApoI	R`AATT,Y	1265	HpaI	GTT AAC	1320
AvaI	C`YCGR,G	1137	KpnI	G,GTAC`C	1118
BaeI	,(N) ₅ `(N) ₁₀ ACNNNNGTAYC(N) ₇ ,,(N) ₅ `	2102	MfeI	C`AATT,G	1329
BamHI	G`GATC,C	1126	MluI	A`CGCG,T	1150
BbvCI	CC`TCA,GC	2587	NotI	GC`GGCC,GC	3855
BciVI	GTATCC(N) ₅ ,N`	3237	NruI	TCG CGA	654
BglII	A`GATC,T	1156	Paer7I	C`TCGA,G	1137
BsaBI	GATNN NNATC	579	PciI	A`CATG,T	3035
BsaXI	,NNN`(N) ₉ AC(N) ₅ CTCC(N) ₇ ,NNN`	541	PsiI	TTA TAA	1300
BsoBI	C`YCGR,G	1137	PspOMI	G`GGCC,C	1972
BspEI	T`CCGG,A	444	PspXI	VC`TCGA,GB	1137
BspHI	T`CATG,A	3755	PstI	C,TGCA`G	3875
BstBI	TT`CG,AA	2771	PvuII	CAG CTG	1532
BstEII	G`GTNAC,C	3882	SacI	G,AGCT`C	1148
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	3875	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	5
BstZ17I	GTA TAC	4467	SgrAI	CR`CCGG,YG	2122
Bsu36I	CC`TNA,GG	4313	XbaI	T`CTAG,A	2700
Eco53kI	GAG CTC	1145	XhoI	C`TCGA,G	1138
EcoNI	CCTNN`N,NNAGG	2376	XmnI	GAANN NNTTC	810

➤ pGLuc-Dura-miR质粒可使用的测序引物序列如下:

Feverse primer (998-1015): 5'CGT GCA GTG TTC TGA CCT 3'
Reverse primer (1208-1227): 5'GGT TTG TCC AAA CTC ATC AA 3'

➤ pGLuc-Dura-miR的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2107-1μg	pGLuc-Dura-miR (报告基因质粒)	1μg
D2107-100μg	pGLuc-Dura-miR (报告基因质粒)	100μg
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 本质粒未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途,也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 首次使用1μg包装的本产品时,请先取少量本质粒转化大肠杆菌,进行质粒小量、中量或大量抽提后再用于后续用途。抽提获得的质粒可以通过酶切电泳进行鉴定,或通过测序进行鉴定。
2. 100μg包装的本产品质粒浓度为0.1μg/μl,共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。
3. 用于插入调控序列:在多克隆位点选取适当的酶切位点,经酶切处理后连入适当的基因转录调控序列。pGLuc-Dura-miR也可以用作报告基因检测时的阴性对照。
4. pGLuc-Dura-miR质粒以及以此质粒为模板构建的质粒可以用常规的细胞转染方法转染细胞。检测时可以采用碧云天的Gaussia-Dura Luciferase荧光素酶报告基因检测试剂盒检测Gaussia-Dura Luciferase荧光素酶的表达水平。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D2102-1μg	pGL6 (报告基因质粒)	1μg
D2102-100μg	pGL6 (报告基因质粒)	100μg

D2105-1μg	pGL6-TA (报告基因质粒)	1μg
D2105-100μg	pGL6-TA (报告基因质粒)	100μg
D2106-1μg	pGL6-miR (报告基因质粒)	1μg
D2106-100μg	pGL6-miR (报告基因质粒)	100μg
D2108-1μg	pAP1-luc (报告基因质粒)	1μg
D2108-100μg	pAP1-luc (报告基因质粒)	100μg
D2109-1μg	pAP1-TA-luc (报告基因质粒)	1μg
D2109-100μg	pAP1-TA-luc (报告基因质粒)	100μg
D212-1μg	pARE-luc (报告基因质粒)	1μg
D2112-100μg	pARE-luc (报告基因质粒)	100μg
D2152-1μg	pGRE-luc (报告基因质粒)	1μg
D2152-100μg	pGRE-luc (报告基因质粒)	100μg
D2179-1μg	pISRE-TA-luc (报告基因质粒)	1μg
D2179-100μg	pISRE-TA-luc (报告基因质粒)	100μg
D2198-1μg	pMyc-TA-luc (报告基因质粒)	1μg
D2198-100μg	pMyc-TA-luc (报告基因质粒)	100μg
D2206-1μg	pNFκB-luc (报告基因质粒)	1μg
D2206-100μg	pNFκB-luc (报告基因质粒)	100μg
D2207-1μg	pNFκB-TA-luc (报告基因质粒)	1μg
D2207-100μg	pNFκB-TA-luc (报告基因质粒)	100μg
D2223-1μg	pp53-TA-luc (报告基因质粒)	1μg
D2223-100μg	pp53-TA-luc (报告基因质粒)	100μg
D2248-1μg	pRb-TA-luc (报告基因质粒)	1μg
D2248-100μg	pRb-TA-luc (报告基因质粒)	100μg
D2259-1μg	pSTAT3-TA-luc (报告基因质粒)	1μg
D2259-100μg	pSTAT3-TA-luc (报告基因质粒)	100μg
D2306-1μg	pAAT-promoter-luc (报告基因质粒)	1μg
D2306-100μg	pAAT-promoter-luc (报告基因质粒)	100μg
D2286-1μg	pIL-6-promoter-luc (报告基因质粒)	1μg
D2286-100μg	pIL-6-promoter-luc (报告基因质粒)	100μg
D2480-1μg	pTNF-α-promoter-luc (报告基因质粒)	1μg
D2480-100μg	pTNF-α-promoter-luc (报告基因质粒)	100μg
D2481-1μg	pTNF-α-promoter-TA-luc (报告基因质粒)	1μg
D2481-100μg	pTNF-α-promoter-TA-luc (报告基因质粒)	100μg
D2762-1μg	pRL-SV40-N (报告基因质粒)	1μg
D2762-100μg	pRL-SV40-N (报告基因质粒)	100μg
D2768-1μg	pRL-SV40-C (报告基因质粒)	1μg
D2768-100μg	pRL-SV40-C (报告基因质粒)	100μg
RG005	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG006	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000次
RG016	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG017	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000次
RG027	双萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG028	双萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000次
RG0036	β-半乳糖苷酶报告基因检测试剂盒	200次

Version 2020.08.28