

## pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)

产品编号	产品名称	包装
D2208-1μg	pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2208-100μg	pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg

### 产品简介：

- pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)是碧云天自行研发的用于NFκB转录活性(Transcriptional activity)快速响应、超灵敏检测的报告基因质粒。本质粒的主要特点是使用了可以被细胞内泛素-蛋白酶体系统(Ubiquitin-proteasome system, UPS)识别并快速降解的luc-CP, 即包含了泛素化修饰识别序列CP (CL1 and PEST)的luciferase, 确保了更低的背景表达和更好的响应性。
- NFκB也称NF-κB, NFkappaB, NF-kappaB, Nuclear factor κB, Nuclear factor-κB等, 被认为是一种最常见的炎症因子转录因子(Transcriptional factor)。NFκB的核转运激活通常会导致TNF-α、IL-1β、IL-6等炎症因子的转录激活。
- pNFκB-TA-luc-CP是一种超灵敏快速降解型报告基因质粒(Super sensitive and destabilized reporter plasmid), 也被称为是快速响应萤火虫报告基因质粒(Rapid response luciferase reporter plasmid), 是以碧云天的pGL6-TA-CP质粒(D2094)为模板, 在其多克隆位点插入了多个NFκB结合位点构建而成。与pNFκB-TA-luc (D2207)相比, pNFκB-TA-luc-CP中的萤火虫酶增加了泛素化修饰识别序列CP, 检测NFκB转录水平时的背景信号更低、响应时间更快、信号灵敏度更高, 即可以在短时间内超灵敏地检测NFκB的转录激活(图1), 并且更适合进行NFκB转录活性的动态检测。

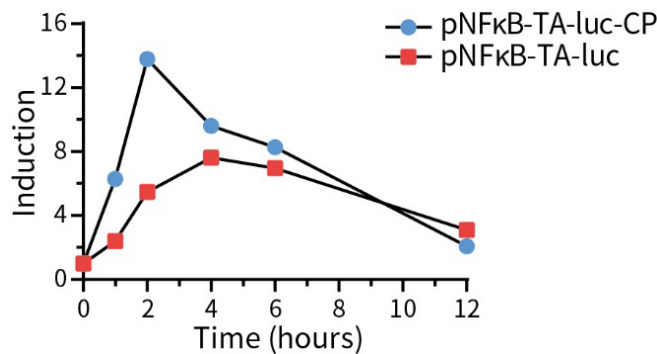


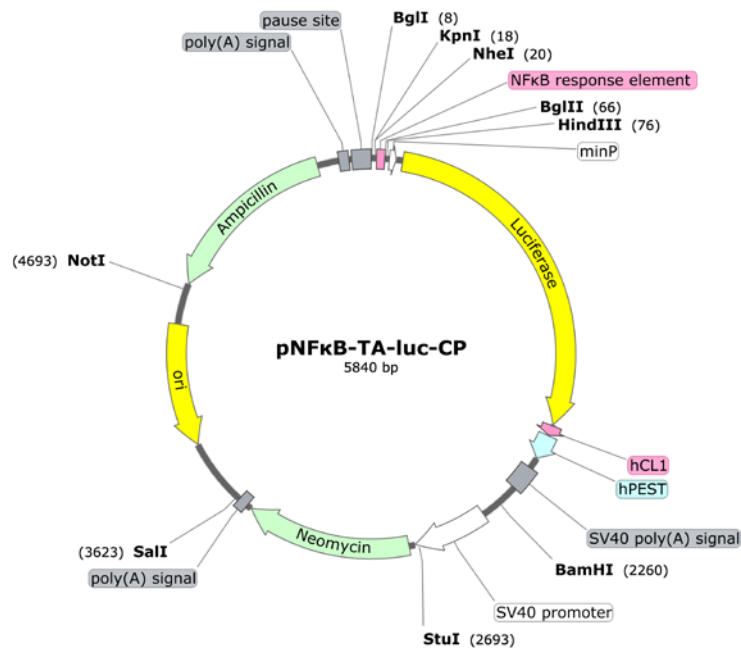
图1. pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)的检测效果图。pNFκB-TA-luc-CP与pNFκB-TA-luc质粒分别转染HEK293T细胞24h后换液, 加入终浓度为10ng/ml的TNF-α (P5318), 0、1、2、4、6和12h后, 使用萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG005)检测NFκB的转录激活水平。实际读数会因细胞数量、转染效果、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- pGL6-TA-CP质粒是用于在哺乳动物细胞中进行萤火虫萤光素酶(Firefly luciferase)报告基因检测的新一代质粒, 该报告基因质粒和Promega公司的pGL3系列相比有了全面的改进。一方面对于luciferase的编码进行了改进, 确保能更好地在哺乳动物细胞中进行表达; 另一方面应用了快速降解型报告基因技术, 在luciferase后增加了泛素-蛋白酶体系统识别和降解序列CL1和PEST, 合并简称CP, 从而可以促进luciferase-CP在细胞中的降解, 降低萤火虫酶的本底活性。同时整个质粒中可以被预测出的可能的转录因子结合位点全部进行了适当的突变处理, 在保持原有功能不变的情况下, 使各种转录因子在质粒上的非特异性结合降到最低。
- 本质粒中的CP包含针对哺乳动物细胞密码子优化的降解序列hCL1和hPEST。CL1源自酿酒酵母的16个氨基酸序列, 可以引导蛋白质通过泛素-蛋白酶体系统(Ubiquitin-proteasome system)降解[1]; PEST源自小鼠鸟氨酸脱羧酶(Ornithine decarboxylase) C端的40个氨基酸序列(富含脯氨酸/proline (P)、谷氨酸/glutamic acid (E)、丝氨酸/serine (S)和苏氨酸/threonine (T), PEST), 该序列可通过泛素-蛋白酶体系统促进蛋白质的降解[2]。与普通报告基因相比, 快速降解型报告基因的背景更低, 响应性更好, 检测灵敏度更高, 更适合监测动态变化过程, 例如转录活性的节律变化等。
- 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。
- pNFκB-TA-luc-CP质粒的主要信息如下:

Base pairs	5651
NFκB response element (κB)	27-65
Minimal TA promoter (pTA)	88-119
Luciferase reporter gene	152-1804
hCL1	1811-1858

hPEST	1862-1981
SV40 late poly(A) signal	2037-2158
SV40 early enhancer/promoter	2352-2709
Neomycin	2740-3534
Synthetic poly(A) signal	3559-3607
Reporter Vector primer 4 (RVprimer4) binding region	3674-3693
ColE1-derived plasmid replication origin	3931
Ampicillin	4722-5582
Synthetic poly(A) signal/ transcriptional pause site	5687-5840
Reporter Vector primer 3 (RVprimer3) binding region	5789-5808

➤ pNFκB-TA-luc-CP质粒的图谱如下:



➤ pNFκB-TA-luc-CP的多克隆位点及NFκB response element的详细图谱如下:

BglI	KpnI	NheI	NFκB response element
1 GGCCTAACTG	GCCGGTACCG	CTAGCGGGAA	TTTCCGGGAA TTTCCGGGAA
CCGGATTGAC	CGGCCATGGC	GATCGCCCTT	AAAGGCCCTT AAAGGCCCTT

BglII	HindIII	Minimal TA promoter
51 TTTCCGGGAA	TTTCCAGATC	TGCAGAAGCT TAGACACTAG AGGGTATATA
AAAGGCCCTT	AAAGGTCTAG	ACGTCTTCTGA ATCTGTGATC TCCCATATAT

➤ pNFκB-TA-luc-CP中没有的酶切位点包括:

Aat II	Asc I	Ase I	Bsa I	BsaA I	BsiW I	BspM II
BssH II	Eco72 I	EcoR I	EcoR V	Mlu I	Nde I	Nru I
PaeR7 I	PflM I	Pme I	Pml I	Psp1406 I	PspA I	Rsr II
Sac I	Sma I	SnaB I	Spl I	Srf I	Tth111 I	Vsp I
Xcm I	Xho I	Xma I				

➤ pNFκB-TA-luc-CP中的单酶切位点包括:

Sfi I	GGCCN, NNN`NGGCC	8	Afl II	A`CRYG, T	1834
Bgl I	GCCN, NNN`NGGC	8	Mun I	C`AATT, G	2167
Acc65 I	G`GTAC, C	14	BamH I	G`GATC, C	2260
Asp718	G`GTAC, C	14	Stu I	AGG CCT	2693
Kpn I	G, GTAC`C	18	EcoN I	CCTNN`N, NNAGG	3026
Nhe I	G`CTAG, C	20	BstB I	TT`CG, AA	3609
Bgl II	A`GATC, T	66	Sal I	G`TCGA, C	3623
Hind III	A`AGCT, T	76	Afl III	A`CRYG, T	3873
BsrG I	T`GTAC, A	642	ApaL I	G`TGCA, C	4187
Gsu I	CTGGAG 21/19	1532	Not I	GC`GGCC, GC	4693
Bpm I	CTGGAG 22/20	1532	BstX I	CCAN, NNNN`NTGG	4717

BstE II	G`GTNAC,C	4720	Bst1107 I	GTA TAC	5305
Ahd I	GACNN,N`NNGTC	4795	Spe I	A`CTAG,T	5624
Bsu36 I	CC`TNA,GG	5151	BsmA I	GTCTC`/9	5637
Pvu I	CG,AT`CG	5165	BsmB I	CGTCTC 7/11	5637
Sac II	CC,GC`GG	5189			

- pNFκB-TA-luc-CP质粒中推荐使用的测序引物序列如下：  
RVprimer3 (5789-5808): CTA GCA AAA TAG GCT GTC CC
- pNFκB-TA-luc-CP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
D2208-1μg	pNFκB-TA-luc-CP	1μg
D2208-100μg	pNFκB-TA-luc-CP	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：

- 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。
- 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。
- pNFκB-TA-luc-CP可用常规的细胞转染方法转染细胞。检测时可采用碧云天的萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG005/RG006)、双萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG027/RG028)、Bright-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG051/RG052)、One-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG055/RG056)、Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG058/RG059)或Dual-Lumi™双萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG088/RG089)。
- TNF-α、IL-1β和LPS等是常见的可以激活NFκB的试剂，可以用作pNFκB-TA-luc-CP报告基因检测时的阳性对照。

#### 参考文献：

- Gilon T, Chomsky O, Kulka R.G. EMBO J. 1998. 17:2759-66.
- Rogers S, Wells R, Rechsteiner M. Science. 1986. 234 (4774):364-8.

#### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D2093-1μg	pGL6-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2093-100μg	pGL6-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2094-1μg	pGL6-TA-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2094-100μg	pGL6-TA-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2110-1μg	pAP1-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2110-100μg	pAP1-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2113-1μg	pARE-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2113-100μg	pARE-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2180-1μg	pISRE-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2180-100μg	pISRE-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2208-1μg	pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2208-100μg	pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2224-1μg	pp53-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2224-100μg	pp53-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2260-1μg	pSTAT3-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2260-100μg	pSTAT3-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2502-1μg	TOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg

D2502-100μg	TOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2504-1μg	FOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2504-100μg	FOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2506-1μg	SuperTOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2506-100μg	SuperTOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg
D2508-1μg	SuperFOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2508-100μg	SuperFOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg

Version 2021.12.09