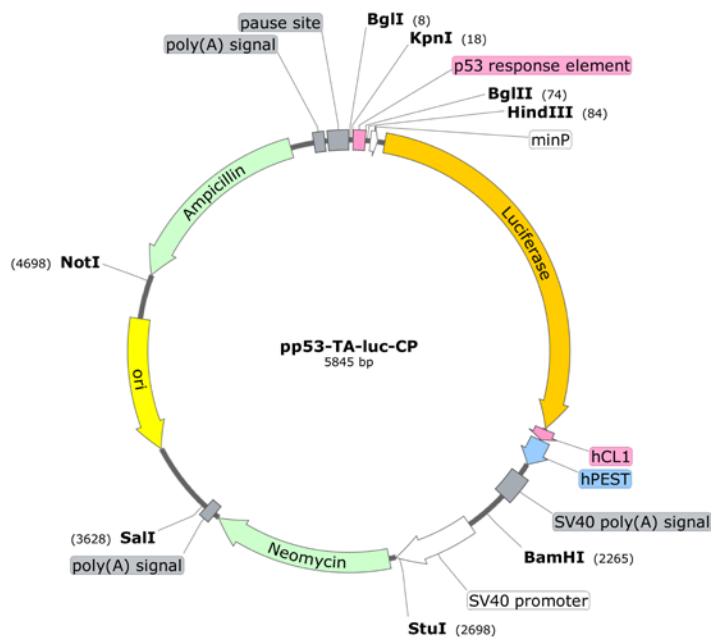


pp53-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)

产品编号	产品名称	包装
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

产品简介：

- pp53-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检测p53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luciferase-CP (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。
- pp53-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光素酶报告基因质粒(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p53结合位点构建而成。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luc-CP在细胞中的降解，降低萤光素酶的本底活性。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。
- 与pp53-TA-luc (D2223)相比，pp53-TA-luc-CP中的萤光素酶增加了泛素化修饰识别序列CP，检测p53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p53的转录激活，并且更适合进行p53转录活性的动态检测。
- 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。
- pp53-TA-luc-CP质粒的图谱如下：



- pp53-TA-luc-CP质粒的主要信息如下：

Base pairs

5845

p53 response element	20-73
Minimal TA promoter (pTA)	96-127
Luciferase reporter gene	160-1809
hCL1	1816-1863
hPEST	1867-1986
SV40 late poly(A) signal	2042-2163
SV40 early enhancer/promoter	2357-2714
Neomycin	2745-3539
Synthetic poly(A) signal	3564-3612
Reporter Vector primer 4 (RVprimer4) binding region	3679-3698
ColE1-derived plasmid replication origin	3936
Ampicillin	4727-5587
Synthetic poly(A) signal/ transcriptional pause site	5692-5845
Reporter Vector primer 3 (RVprimer3) binding region	5794-5813

➤ pp53-TA-luc-CP的多克隆位点及p53 response element的详细图谱如下:

```

      BglI           KpnI           p53 response element
1  GGCTTAACGTC GCCGGTACCA CGTTTGCCCTT GCCTGGACTT GCCTGGCCTT
   CCGGATTGAC  CGGCCATGGT  GCAAACGGAA  CGGACCTGAA  CGGACCGGAA

```

```

                        BglIII       HindIII
51 GCCTTGACAC TGCCCGGGCT GTCAGATCTG CAGAAGCTTA GACACTAGAG
   CGGAACCTGT  ACGGGCCCGA  CAGTCTAGAC  GTCTTCGAAT  CTGTGATCTC

```

```

Minimal TA promoter
101 GGTATATAAT  GGAAGCTCGA  CTTCCAGCTT  GGCAATCCGG  TACTGTTGGT
    CCATATATTA  CCTTCGAGCT  GAAGGTCGAA  CCGTTAGGCC  ATGACAACCA

```

➤ pp53-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	Nhe I
Nru I	Paer7 I	PflM I	Pme I	Pml I	Psp1406 I	Rsr II
Sac I	SnaB I	Spl I	Tth111 I	Vsp I	Xcm I	Xho I
Xmn I						

➤ pp53-TA-luc-CP中的单酶切位点包括:

Sfi I	GGCCN, NNN`NGGCC	8	EcoN I	CCTNN`N, NNAGG	3219
Bgl I	GCCN, NNN`NGGC	8	BstB I	TT`CG, AA	3614
Acc65 I	G`GTAC, C	14	Sal I	G`TCGA, C	3628
Asp718	G`GTAC, C	14	Afl III	A`CRYG, T	3878
Kpn I	G, GTAC`C	18	ApaL I	G`TGCA, C	4192
Xma I	C`CCGG, G	63	Not I	GC`GGCC, GC	4698
Sma I	CCC GGG	65	BstX I	CCAN, NNNN`NTGG	4722
Bgl II	A`GATC, T	74	BstE II	G`GTNAC, C	4725
Hind III	A`AGCT, T	84	Ahd I	GACNN, N`NNGTC	4800
BsrG I	T`GTAC, A	650	Bsu36 I	CC`TNA, GG	5156
Gsu I	CTGGAG 21/19	1540	Pvu I	CG, AT`CG	5170
Bpm I	CTGGAG 22/20	1540	Sac II	CC, GC`GG	5194
Afl II	A`CRYG, T	1839	Bst1107 I	GTA TAC	5310
Mun I	C`AATT, G	2172	Spe I	A`CTAG, T	5629
BamH I	G`GATC, C	2265	BsmA I	GTCTC`/9	5642
Stu I	AGG CCT	2698	BsmB I	CGTCTC 7/11	5642

➤ pp53-TA-luc-CP质粒中推荐的测序引物序列如下:

RVprimer3 (5794-5813): CTA GCA AAA TAG GCT GTC CC

➤ pp53-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
D2224-1μg	pp53-TA-luc-CP	1μg
D2224-100μg	pp53-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：

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. pp53-TA-luc-CP可以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)或双萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG027/RG028)。
4. 紫外照射、离子辐射等可以导致DNA损伤的作用或试剂可以激活p53，可以用作pp53-TA-luc-CP报告基因检测时的阳性对照。

参考文献：

1. Gilon T, Chomsky O, Kulka R.G. EMBO J. 1998. 17:2759-66.
2. 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