

## pAAT-promoter-luc (报告基因质粒)

| 产品编号        | 产品名称                       | 包装    |
|-------------|----------------------------|-------|
| D2306-1μg   | pAAT-promoter-luc (报告基因质粒) | 1μg   |
| D2306-100μg | pAAT-promoter-luc (报告基因质粒) | 100μg |

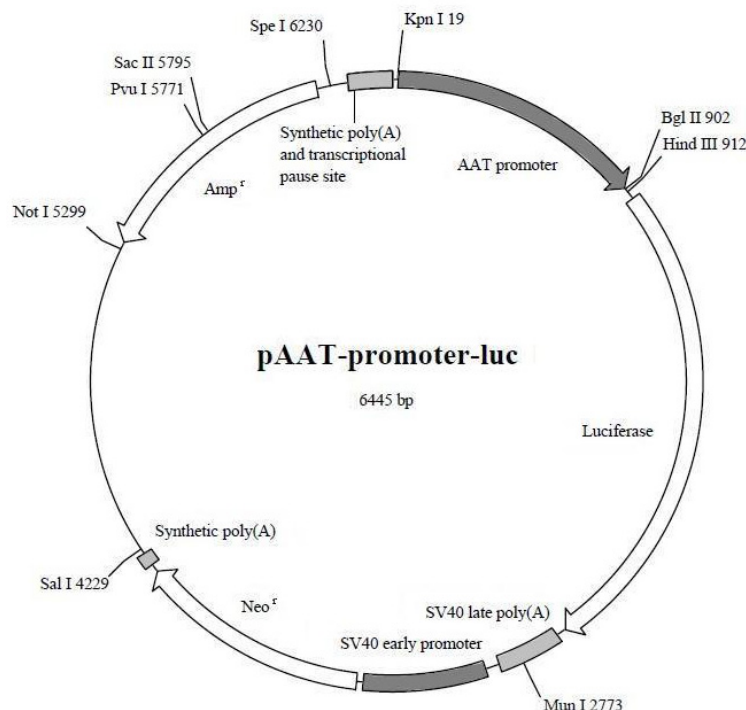
### 产品简介：

- pAAT-promoter-luc (报告基因质粒)是碧云天自行研发的用于检测AAT promoter转录活性水平的报告基因质粒。
- pAAT-promoter-luc是以碧云天的pGL6质粒为模板，在其多克隆位点插入了human AAT的启动子序列，可以高灵敏度地检测AAT promoter的激活水平。
- AAT(alpha 1-Antitrypsin或alpha-1 antiproteinase, 也简称为A1AT), 又称serine peptidase inhibitor, clade A, member 1或serine proteinase inhibitor, clade A, member 1(简称SERPINA1), 是一种可以被分泌到细胞外的丝氨酸蛋白酶抑制剂, 可以抑制elastase、plasmin、thrombin、trypsin和chymotrypsin等。AAT基因缺陷时会导致肺气肿(emphysema)或肝脏疾病等。
- pGL6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。该报告基因质粒比Promega公司的pGL3系列有了全面的改进, 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, 同时对整个质粒中所有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。

- pAAT-promoter-luc质粒的主要信息如下:

|  |           |
|--|-----------|
| Base pairs   | 6445      |
| AAT promoter   | 20-900    |
| luc2 reporter gene   | 946-2598  |
| SV40 late poly(A) signal                                   | 2633-2854 |
| SV40 early enhancer/promoter                               | 2902-3320 |
| Synthetic neomycin phosphotransferase (Neor) coding region | 3345-4139 |
| Synthetic poly(A) signal                                   | 4164-4212 |
| Reporter Vector primer 4 (RVprimer4) binding region        | 4279-4298 |
| ColE1-derived plasmid replication origin                   | 4536      |
| Synthetic Beta-lactamase (Ampr) coding region              | 5327-6187 |
| Synthetic poly(A) signal/transcriptional pause site        | 6292-6445 |
| Reporter Vector primer 3 (RVprimer3) binding region        | 6394-6413 |

- pAAT-promoter-luc质粒的图谱如下:



➤ pAAT-promoter-luc的多克隆位点及AAT-promoter的详细图谱如下:

|     | BglI                      | KpnI                     | AAT promoter              |                           | BamHI                    |
|-----|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 1   | GGCCTAACTG<br>CCGGATTGAC  | GCCGGTACCT<br>CGGCCATGGA | TCCCTGGTCT<br>AGGGACCAGA  | GAATGTGTGT<br>CTTACACACA  | GCTGGAGGAT<br>CGACCTCCTA |
| 51  | CCTGTGGGTC<br>GGACACCCAG  | ACTCGCCTGG<br>TGAGCGGACC | TAGAGCCCCA<br>ATCTCGGGGT  | AGGTGGAGGC<br>TCCACCTCCG  | ATAAATGGGA<br>TATTTACCCT |
| 101 | CTGGTGAATG<br>GACCACTTAC  | ACAGAAGGGG<br>TGTCTTCCCC | CAAAAATGCA<br>GTTTTTACGT  | CTCATCCATT<br>GAGTAGGTAA  | CACTCTGCAA<br>GTGAGACGTT |
| 151 | GTATCTACGG<br>CATAGATGCC  | CACGTACGCC<br>GTGCATGCGG | AGCTCCCAAG<br>TCGAGGGTTC  | CAGGTTTGCG<br>GTCCAAACGC  | GGTTGCACAG<br>CCAACGTGTC |
|     |                           |                          |                           |                           | ApaI                     |
| 201 | CGGGCGATGC<br>GCCCCGTACG  | AATCTGATTT<br>TTAGACTAAA | AGGCTTTTAA<br>TCCGAAAATT  | AGGGATTGCA<br>TCCCTAACGT  | ATCAAGTGGG<br>TAGTTCACCC |
| 251 | GCCCCACTAG<br>CGGGGTGATC  | CCTCAACCCT<br>GGAGTTGGGA | GTACCTCCCC<br>CATGGAGGGG  | TCCCCTCCAC<br>AGGGGAGGTG  | CCCCAGCAGT<br>GGGGTCGTCA |
|     |                           | StuI                     |                           |                           |                          |
| 301 | CTCCAAAGGC<br>GAGGTTTCCG  | CTCCAACAAC<br>GAGGTTGTTG | CCCAGAGTGG<br>GGGTCTCACC  | GGGCCATGTA<br>CCCAGTACAT  | TCCAAAGAAA<br>AGGTTTCTTT |
| 351 | CTCCAAGCTG<br>GAGGTTTCGAC | TATATGGATC<br>ATATACCTAG | ACACTGGTTF<br>TGTGACCAAA  | TCCAGGAGCA<br>AGGTCCTCGT  | AAAACAGAAA<br>TTTTGTCTTT |
| 401 | CAGGCCTGAG<br>GTCCGGACTC  | GCTGGTCAAA<br>CGACCAGTTT | ATTGAACCTC<br>TAACTTGGAG  | CTCCTGCTCT<br>GAGGACGAGA  | GAGCAGCCTG<br>CTCGTCGGAC |
| 451 | GGGGCAGAC<br>CCCCCGTCTG   | TAAGCAGAGG<br>ATTCGTCTCC | GCTGTGCAGA<br>CGACACGTCT  | CCCACATAAA<br>GGGTGTATTT  | GAGCCTACTG<br>CTCGGATGAC |
| 501 | TGTGCCAGGC<br>ACACGGTCCG  | ACTTCACCCG<br>TGAAGTGGGC | AGGCACTTCA<br>TCCGTGAAAGT | CAAGCATGCT<br>GTTCGTACGA  | TGGGAATGAA<br>ACCCTTACTT |
| 551 | ACTTCCAAC<br>TGAAGGTTGA   | CTTTGGGATG<br>GAAACCCTAC | CAGGTGAAAC<br>GTCCACTTTG  | AGTTCCTGGT<br>TCAAGGACCA  | TCAGAGAGGT<br>AGTCTCTCCA |
| 601 | GAAGCGCCT<br>CTTCGCCGGA   | GCCTGAGGCA<br>CGGACTCCGT | GCACAGCTCT<br>CGTGTGAGAG  | TCTTTACAGA<br>AGAAATGTCT  | TGTGCTTCCC<br>ACACGAAGGG |
| 651 | CACCTCTACC<br>GTGGAGATGG  | CTGTCTCACG<br>GACAGAGTGC | GCCCCCATG<br>CGGGGGGTAC   | CCAGCCTGAC<br>GGTCGGACTG  | GGTTGTGTCT<br>CCAACACAGA |
| 701 | GCCTCAGTCA<br>CGGAGTCAGT  | TGCTCCATTT<br>ACGAGGTAAA | TTCATCGGG<br>AAGGTAGCCC   | ACCATCAAGA<br>TGGTAGTTCT  | GGGTGTTTGT<br>CCCACAAACA |
| 751 | GTCTAAGGCT<br>CAGATTCCGA  | GACTGGGTAA<br>CTGACCCATT | CTTTGGATGA<br>GAAACCTACT  | GCGGTCTCTC<br>CGCCAGAGAG  | CGCTCTGAGC<br>GCGAGACTCG |
| 801 | CTGTTTCTCT<br>GACAAAGGAG  | ATCTGTCAAA<br>TAGACAGTTT | TGGGCTCTAA<br>ACCCGAGATT  | CCCACTCTGA<br>GGGTGAGACT  | TCTCCCAGGG<br>AGAGGGTCCC |
| 851 | CGGCAGTAAG<br>GCCGTCATTC  | TCTTCAGCAT<br>AGAAGTCGTA | CAGGCATTTT<br>GTCCGTAAAA  | GGGGTGA CTC<br>CCCCACTGAG | AGTAAATGGT<br>TCATTTACCA |
|     | BglII                     | HindIII                  |                           |                           |                          |
| 901 | AGATCTGCAG<br>TCTAGACGTC  | AAGCTTGGCA<br>TTCGAACCGT | ATCCGGTACT<br>TAGGCCATGA  | GTTGGTAAAG<br>CAACCATTTT  | CCACCATGGA<br>GGTGGTACCT |

➤ pAAT-promoter-luc中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pAAT-promoter-luc)包括:

|         |         |        |        |         |
|---------|---------|--------|--------|---------|
| Aat II  | Afl II  | Asc I  | Ase 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      PspA I      Rsr II  
Sac I      Sma I      SnaB I      Srf I      Tth111 I

➤ pAAT-promoter-luc中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pAAT-promoter-luc once)包括:

|          |                       |      |           |                |      |
|----------|-----------------------|------|-----------|----------------|------|
| Sfi I    | GGCCN, NNN`NGGCC      | 9    | Mun I     | C`AATT, G      | 2773 |
| Acc65 I  | G`GTAC, C             | 15   | BsiC I    | TT`CG, AA      | 4215 |
| Asp718   | G`GTAC, C             | 15   | BstB I    | TT`CG, AA      | 4215 |
| Kpn I    | G, GTAC`C             | 19   | Sal I     | G`TCGA, C      | 4229 |
| BsaA I   | YAC GTR               | 164  | Afl III   | A`CRYG, T      | 4479 |
| BsiW I   | C`GTAC, G             | 164  | ApaL I    | G`TGCA, C      | 4793 |
| Spl I    | C`GTAC, G             | 164  | Not I     | GC`GGCC, GC    | 5299 |
| Xcm I    | CCANNNN, N`NNNNTGG361 |      | BstE II   | G`GTNAC, C     | 5326 |
| Xmn I    | GAANN NNTTC           | 581  | Ahd I     | GACNN, N`NNGTC | 5401 |
| Bsa I    | GGTCTC 7/11           | 790  | Pvu I     | CG, AT`CG      | 5771 |
| Bgl II   | A`GATC, T             | 902  | Sac II    | CC, GC`GG      | 5795 |
| Hind III | A`AGCT, T             | 912  | Bst1107 I | GTA TAC        | 5911 |
| BsrG I   | T`GTAC, A             | 1437 | Xca I     | GTA TAC        | 5911 |
| Dra III  | CAC, NNN`GTG          | 2093 | Spe I     | A`CTAG, T      | 6230 |
| Apo I    | R`AATT, Y             | 2709 | BsmB I    | CGTCTC 7/11    | 6243 |

➤ pAAT-promoter-luc质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

RVprimer3 (6394-6413):

CTA GCA AAA TAG GCT GTC CC

➤ pAAT-promoter-luc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    |
|-------------|----------------------------|-------|
| D2306-1μg   | pAAT-promoter-luc (报告基因质粒) | 1μg   |
| D2306-100μg | pAAT-promoter-luc (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. pAAT-promoter-luc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萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒(RG005/RG006)或双荧光素酶报告基因检测试剂盒(RG027/RG028)。
4. 可以激活AAT promoter的试剂，可以用作pAAT-promoter-luc报告基因检测时的阳性对照。

Version 2018.05.01