

pFastBac1-EGFP (杆状病毒包装阳性对照质粒)

产品编号	产品名称	包装
D2802	pFastBac1-EGFP (杆状病毒包装阳性对照质粒)	1μg

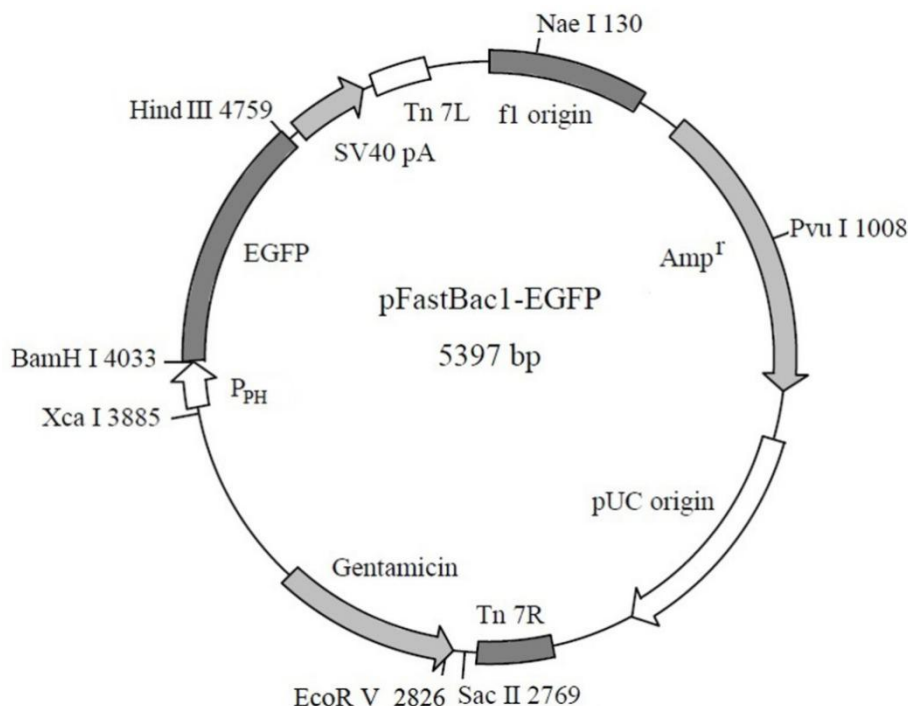
产品简介:

- pFastBac1-EGFP是以pFastBac1为基础构建的用于在昆虫细胞表达EGFP的质粒。在polyhedrin (PH)启动子的作用下,可以高效启动EGFP在昆虫细胞(如Sf9和Sf21等)中的表达。
- 在采用Bac-to-Bac杆状病毒表达系统表达目的蛋白时, pFastBac1-EGFP可以用作监测转染、病毒包装和目的蛋白表达效果的对照质粒。表达的EGFP有很强的绿色荧光,在荧光显微镜下可以非常方便地观察转染、病毒包装和表达的效果。
- pFastBac1是基于Bac-to-Bac杆状病毒表达系统(Bac-to-Bac Baculovirus Expression System)而设计的表达载体。Bac-to-Bac杆状病毒表达系统是由Luckow等人于1993年发展的一种快速而有效产生重组杆状病毒的方法。该系统主要包括以下两个组分: (1)用于插入目的基因的pFastBac载体,目的基因如EGFP等插入后受杆状病毒特异性启动子(baculovirus-specific promoter) polyhedrin启动子调控表达; (2)含杆状病毒穿梭载体bacmid (bMON14272, 136kb)和辅助质粒(helper plasmid, 用于表达转座必须的转座蛋白)的大肠杆菌DH10Bac宿主菌株(D0346)。将pfastBac重组质粒转化该菌株可发生pfastBac重组质粒中mini-Tn7元件和bacmid上的mini-attTN7发生转座,从而形成重组的bacmid。位点特异的转座会破坏宿主的lacZα基因,从而可通过蓝白斑筛选重组克隆。PCR等方法鉴定重组克隆后,提取重组的bacmid转染昆虫细胞,可以产生重组杆状病毒,并表达目的蛋白如EGFP等。扩增重组的杆状病毒并感染昆虫细胞,就可以大量表达纯化目的蛋白了。

- pFastBac1-EGFP质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
fl origin		2-457
Ampicillin resistance gene		589-1449
pUC origin		1594-2267
Tn 7R		2511-2735
Gentamicin resistance gene		2802-3335
Polyhedrin promoter (P _{PH})		3904-4032
EGFP		4038-4757
SV40 polyadenylation signal		4794-5021
Tn 7L		5050-5215

- pFastBac1-EGFP质粒(5397bp)的图谱如下:



➤ pFastBac1-EGFP的详细图谱如下:

BamHI EGFP

```

4031 CGGATCCATG GTGAGCAAGG GCGAGGAGCT GTTACCCGGG GTGGTGCCCA
    GCCTAGGTAC CACTCGTTCC CGCTCCTCGA CAAGTGGCCC CACCACGGGT

4081 TCCTGGTTCGA GCTGGACGGC GACGTAAACG GCCACAAGTT CAGCGTGTCC
    AGGACCAGCT CGACCTGCCG CTGCATTTGC CGGTGTTCAA GTCGCACAGG

4131 GGCGAGGGCG AGGGCGATGC CACCTACGGC AAGCTGACCC TGAAGTTCAT
    CCGCTCCCGC TCCCGCTACG GTGGATGCCG TCGACTGGG ACTTCAAGTA

4181 CTGCACCACC GGCAAGCTGC CCGTGCCCTG GCCACCCTC GTGACCACCC
    GACGTGGTGG CCGTTCGACG GGCACGGGAC CGGGTGGGAG CACTGGTGGG

4231 TGACCTACGG CGTGCAGTGC TTCAGCCGCT ACCCCGACCA CATGAAGCAG
    ACTGGATGCC GCACGTACAG AAGTCGGCGA TGGGGCTGGT GTACTTCGTC

4281 CACGACTTCT TCAAGTCCGC CATGCCCGAA GGCTACGTCC AGGAGCGCAC
    GTGCTGAAGA AGTTCAGGCG GTACGGGCTT CCGATGCAGG TCCTCGCGTG

4331 CATCTTCTTC AAGGACGACG GCAACTACAA GACCCGCGCC GAGGTGAAGT
    GTAGAAGAAG TTCTTGCTGC CGTTGATGTT CTGGGCGCGG CTCCACTTCA

4381 TCGAGGGCGA CACCCTGGTG AACCGCATCG AGCTGAAGGG CATCGACTTC
    AGCTCCCGCT GTGGGACCAC TTGGCGTAGC TCGACTTCCC GTAGCTGAAG

4431 AAGGAGGACG GCAACATCCT GGGGCACAAG CTGGAGTACA ACTACAACAG
    TTCTCTCTGC CGTTGTAGGA CCCCCTGTTC GACCTCATGT TGATGTTGTC

4481 CCACAACGTC TATATCATGG CCGACAAGCA GAAGAACGGC ATCAAGGTGA
    GGTGTTGCAG ATATAGTACC GGCTGTTTCGT CTTCTTGCCG TAGTTCCACT

4531 ACTTCAAGAT CCGCCACAAC ATCGAGGACG GCAGCGTGCA GCTCGCCGAC
    TGAAGTTCCTA GGCGGTGTTG TAGCTCCTGC CGTCGCACGT CGAGCGGCTG

4581 CACTACCAGC AGAACACCCC CATCGGCGAC GGCCCCGTGC TGCTGCCCGA
    GTGATGGTCG TCTTGTGGGG GTAGCCGCTG CCGGGGCACG ACGACGGGCT

4631 CAACCACTAC CTGAGCACCC AGTCCGCCCT GAGCAAAGAC CCCAACGAGA
    GTTGGTGATG GACTCGTGGG TCAGGCGGGA CTCGTTTCTG GGGTTGCTCT

4681 AGCGCGATCA CATGGTCCTG CTGGAGTTCG TGACCGCCGC CGGGATCACT
    TCGCGCTAGT GTACCAGGAC GACCTCAAGC ACTGGCGGCG GCCCTAGTGA
    
```

HindIII

```

4731 CTCGGCATGG ACGAGCTGTA CAAGTAAAAG CTTGTTCGAGA AGTACTAGAG
    GAGCCGTACC TGCTCGACAT GTTCATTTTC GAACAGCTCT TCATGATCTC
    
```

➤ pFastBac1-EGFP中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pFastBac1-EGFP)包括:

AatII	Acc65I	AfeI	AflII	AgeI	ApaI	AscI
AsiSI	BbvCI	BfuAI	BlpI	BmgBI	BmtI	BsiWI
BspDI	BspMI	BssHII	BstAPI	BstBI	BstEII	Bsu36I
ClaI	CspCI	Eco53kI	EcoNI	EcoO109I	EcoRI	FseI
KasI	KpnI	MluI	NarI	NdeI	NheI	NotI
NruI	NsiI	PacI	PaeR7I	PflMI	PluTI	PmeI
PmlI	PpuMI	PshAI	PspOMI	PspXI	PstI	PvuII
RsrII	SacI	SalI	SbfI	SexAI	SfiI	SfoI
SgrAI	SmaI	SpeI	SphI	SrfI	StuI	SwaI
TspMI	XbaI	XcmI	XhoI	XmaI	ZraI	

➤ pFastBac1-EGFP中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pFastBac1-EGFP once)包括:

NgoMIV	G`CCGG,C	127	BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	3182
NaeI	GCC GGC	129	PflFI	GACN`N,NGTC	3228
BanII	G,RGCY`C	157	Tth111I	GACN`N,NGTC	3228
BsaHI	GR`CG,YC	836	BbsI	GAAGACNN`NNNN,	3757
PvuI	CG,AT`CG	1005	SnaBI	TAC GTA	3881
FspI	TGC GCA	1153	AccI	GT`MK,AC	3883
AlwNI	CAG,NNN`CTG	1852	BstZ17I	GTA TAC	3884
BseYI	C`CCAG,C	1960	BsmFI	GGGAC(N) ₁₀ `NNNN,	4000

TfiI	G`AWT,C	2290	BamHI	G`GATC,C	4032
SapI	GCTCTTCN`NNN,	2381	NcoI	C`CATG,G	4036
BspQI	GCTCTTCN`NNN,	2381	HindIII	A`AGCT,T	4758
MscI	TGG CCA	2709	MfeI	C`AATT,G	4873
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	2713	HpaI	GTT AAC	4886
SacII	CC,GC`GG	2766	BclI	T`GATC,	5022
BaeI	,(N) ₅ `(N) ₁₀ ACNNNNGTAYC(N) ₇ ,(N) ₅ `	2798	AvrII	C`CTAG,G	5037
EcoRV	GAT,ATC	2825			

- pFastBac1-EGFP的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。
- pFastBac1-EGFP质粒使用碧云天研发的LipoInsect™转染试剂(C0551)转染SF9细胞的效果参考图1。

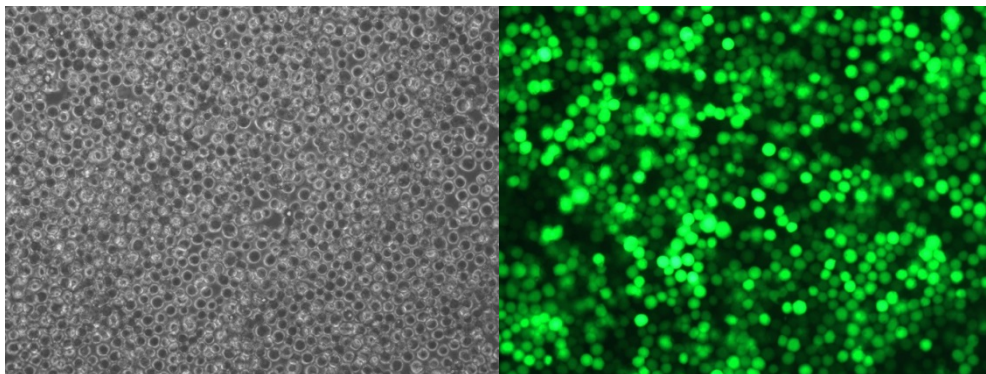


图1. pFastBac1-EGFP质粒转化DH10Bac，获得的重组bacmid用碧云天生产的LipoInsect™转染试剂(C0551)转染SF9细胞4天后的效果图。左侧为明场照片，右侧为荧光照片。

- 关于昆虫细胞系统的蛋白表达与纯化的详细介绍，请见如下网页：http://www.beyotime.com/support/insect_cell.htm。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D2802	pFastBac1-EGFP (杆状病毒包装阳性对照质粒)	1μg
—	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。
- 本质粒通常用于转化大肠杆菌DH10Bac用于制备重组bacmid。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0031	杆状病毒穿梭载体bacmid小量抽提试剂盒	50次
D0346	DH10Bac甘油菌(重组Bacmid制备用菌株)	200μl
D2802	pFastBac1-EGFP (杆状病毒包装阳性对照质粒)	1μg
C0551-0.5ml	LipoInsect™转染试剂	0.5ml
C0551-1.5ml	LipoInsect™转染试剂	1.5ml
C0551-7.5ml	LipoInsect™转染试剂	5×1.5ml

Version 2018.01.23