

pET-Dual-N-GST

产品编号	产品名称	包装
D2931-1μg	pET-Dual-N-GST	1μg
D2931-100μg	pET-Dual-N-GST	100μg

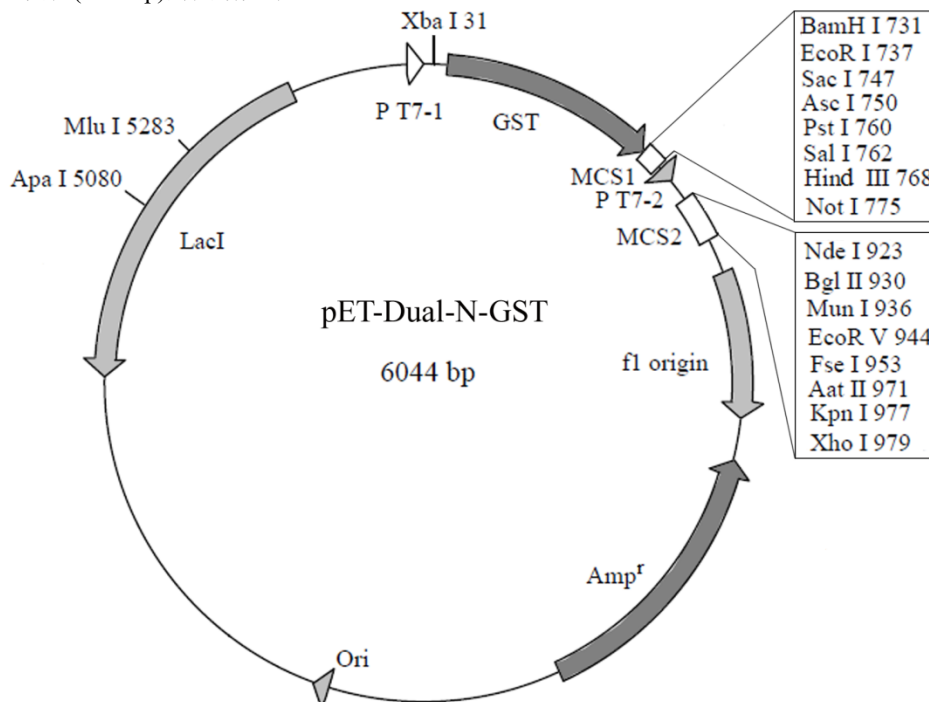
产品简介:

- pET-Dual-N-GST是一种用于在大肠杆菌中高效共表达两种目的蛋白的质粒，其中一种蛋白可以带上GST标签(Glutathione S-transferase tag, GST tag)。本质粒包含两个多克隆位点(MCS)，每个多克隆位点前都有一个T7启动子/*lac*操作子和一个核糖体结合位点 (rbs)，因此都可以在异丙基硫代半乳糖苷(IPTG)的诱导下高效启动目的蛋白的表达。本质粒为氨苄青霉素抗性。
- 在共表达两个蛋白的复合物时，通常宜把较难表达的基因克隆到第一个多克隆位点，并在其N端引物设计时加入PreScission蛋白酶识别的八肽序列(LEVLFGQP)，宜把较易表达的基因克隆到第二个多克隆位点。这样通过GST柱纯化，可分离纯化获得带有GST标签的蛋白复合物，配合使用碧云天生产的PreScission Protease (P2302/P2303) 4°C酶切过夜，第二天收集穿柱液即可获得蛋白复合物，这为后续进行蛋白复合物的功能检测、蛋白结晶等工作带来了极大的便利。PreScission蛋白酶酶切发生在八肽序列的Q和G之间，因此在酶切去除GST标签的时候会在目的蛋白的N端留下两个额外的氨基酸残基GP。当然，本质粒也可以只在第一个多克隆位点插入目的基因，这样就会仅表达一个含有N端GST标签的目的蛋白。

- pET-Dual-N-GST质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
T7 transcription start-1		1
GST-taq coding sequence		71-727
Multiple cloning sites-1(BamH I – NotI)		730-780
T7 promoter-2		838-854
T7 transcription start-2		855
Multiple cloning sites-2(Nde I – XhoI)		922-983
S Tag coding sequence		990-1034
T7 terminator		1086-1133
f1 origin		1171-1618
bla(Ap) coding sequence		1743-2600
pBR322 origin		3361
<i>lacI</i> coding sequence		4555-5637
T7 promoter-1		6028-6044

- pET-Dual-N-GST质粒(6044bp)的图谱如下:



➤ pET-Dual-N-GST的多克隆位点的详细图谱如下:

```

    Lac operator
1  GGGGAATTGT GAGCGGATAA CAATTCCCCT CTAGAAATAA TTTTGTTTAA
   CCCCTTAACA CTCGCCTATT GTTAAGGGGA GATCTTTATT AAAACAAATT

    rbs          GST
51  CTTTAAGAAG GAGATATAAC ATGGGCTCCC CTATACTAGG TTATTGGAAA
   GAAATTC TTC TCTATATGG TACCCGAGGG GATATGATCC AATAACCTTT

101 ATTAAGGGCC TTGTGCAACC CACTCGACTT CTTTGGGAAT ATCTTGAAGA
   TAATCCC CGG AACACGTTGG GTGAGCTGAA GAAAACCTTA TAGAACTTCT

151 AAAATATGAA GAGCATTTGT ATGAGCGCGA TGAAGGTGAT AAATGGCGAA
   TTTTATACTT CTCGTAAACA TACTCGCGCT ACTTCCACTA TTTACCGCTT

201 ACAAAAAGTT TGAATTGGGT TTGGAGTTTC CCAATCTTCC TTATTATATT
   TGTTTTTCAA ACTTAACCCA AACCTCAAAG GGTAGAAAG AATAATATAA

251 GATGGTGATG TTAAATTAAC ACAGTCTATG GCCATCATAC GTTATATAGC
   CTACCACTAC AATTTAATTG TGTCAGATAC CGGTAGTATG CAATATATCG

301 TGACAAGCAC AACATGTTGG GTGGTTGTCC AAAAGAGCGT GCAGAGATTT
   ACTGTTTCGTG TTGTACAACC CACCAACAGG TTTTCTCGCA CGTCTCTAAA

351 CAATGCTTGA AGGAGCGGTT TTGGATATTA GATACGGTGT TTCGAGAATT
   GTTACGAACT TCCTCGCCAA AACCTATAAT CTATGCCACA AAGCTCTTAA

401 GCATATAGTA AAGACTTTGA AACTCTCAA GTTGATTTTC TTAGCAAGCT
   CGTATATCAT TTCTGAAACT TTGAGAGTTT CAACTAAAAG AATCGTTCGA

451 ACCTGAAATG CTGAAAATGT TCGAAGATCG TTTATGTCAT AAAACATATT
   TGGACTTTAC GACTTTTACA AGCTTCTAGC AAATACAGTA TTTTGTATAA

501 TAAATGGTGA TCATGTAACC CATCCTGACT TCATGTTGTA TGACGCTCTT
   ATTTACCACT AGTACATTGG GTAGGACTGA AGTACAACAT ACTGCGAGAA

551 GATGTTGTTT TATACATGGA CCAATGTGC CTGGATGCGT TCCCAAATTT
   CTACAACAAA ATATGTACCT GGGTTACACG GACCTACGCA AGGGTTTTAA

601 AGTTTGT TTTT AAAAACGTA TTGAAGCTAT CCCACAAATT GATAAGTACT
   TCAAACAAA TTTT TTTGTCAT AACTTCGATA GGGTGT TTTAA CTATTCATGA

651 TGAAATCCAG CAAGTATATA GCATGGCCTT TGCAGGGCTG GCAAGCCACG
   ACTTTAGGTC GTTCATATAT CGTACCGGAA ACGTCCCGAC CGTTCGGTGC

    BamHI EcoRI SacI AscI
701 TTTGGTGGTG GCGACCATCC TCCAAAACAG GATCCGAATT CGAGCTCGGC
   AAACCACCAC CGCTGGTAGG AGGTTTTGTC CTAGGCTTAA GCTCGAGCCG

    NotI
    PstI SalI HindIII
751 GCGCCTGCAG GTCGACAAGC TTGCGGCCGC ATAATGCTTA AGTCGAACAG
   CGCGGACGTC CAGCTGTTTCG AACGCCGGCG TATTACGAAT TCAGCTTGTC

    T7 promoter2
801 AAAGTAATCG TATTGTACAC GGCCGCATAA TCGAAATTA TACGACTCAC
   TTTCAATTAG ATAACATGTG CCGGCGTATT AGCTTTAATT ATGCTGAGTG

    T7 transcription-2
    Lac operator
851 TATAGGGGAA TTGTGAGCGG ATAACAATTC CCCATCTTAG TATATTAGTT
   ATATCCCCTT AACACTCGCC TATTGTTAAG GGGTAGAATC ATATAATCAA

    rbs          NdeI BglII MunI EcoRV FseI
901 AAGTATAAGA AGGAGATATA CATATGGCAG ATCTCAATTG GATATCGGCC
   TTCATATTCT TCCTCTATAT GTATACCGTC TAGAGTTAAC CTATAGCCGG

    AatII KpnI XhoI
951 GGCCACGCGA TCGCTGACGT CGGTACCCTC GAGTCTGGTA AAGAAACCGC
   CCGGTGCGCT AGCGACTGCA GCCATGGGAG CTCAGACCAT TTCTTTGGCG
  
```

➤ pET-Dual-N-GST中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pET-Dual-N-GST)包括:

AgeI AleI BbvCI BmgBI BmtI BseRI BsiWI

BsmI	Bsu36I	CspCI	NheI	NruI	NsiI	PmeI
PmlI	PshAI	RsrII	SacII	SexAI	SfiI	SmaI
SnaBI	SpeI	SrfI	StuI	TspMI	XmaI	

➤ pET-Dual-N-GST中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pET-Dual-N-GST once)包括:

XbaI	T`CTAG,A	30	AvaI	C`YCGR,G	978
NcoI	C`CATG,G	69	Paer7I	C`TCGA,G	978
MscI	TGG CCA	281	XhoI	C`TCGA,G	978
BstBI	TT`CG,AA	471	AvrII	C`CTAG,G	1057
SwaI	ATTT AAAT	501	BlpI	GC`TNA,GC	1075
BamHI	G`GATC,C	730	DraIII	CAC,NNN`GTG	1404
EcoRI	G`AATT,C	736	PsiI	TTA TAA	1528
Eco53kI	GAG CTC	744	SspI	AAT ATT	1608
SacI	G,AGCT`C	742	AhdI	GACNN,N`NNGTC	1812
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	748	BsaI	GGTCTCN`NNNN,	1874
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	748	BglI	GCCN,NNN`NGGC	1930
AscI	GG`CGCG,CC	749	FspI	TGC GCA	2035
PstI	C,TGCA`G	755	AlwNI	CAG,NNN`CTG	3006
SalI	G`TCGA,C	761	BstZ17I	GTA TAC	3651
HindIII	A`AGCT,T	767	Tth111I	GACN`N,NGTC	3676
NotI	GC`GGCC,GC	774	PflFI	GACN`N,NGTC	3676
AflIII	C`TTAA,G	787	Bpu10I	CC`TNA,GC	4313
BsrGI	T`GTAC,A	814	PpuMI	RG`GWC,CY	4413
NdeI	CA`TA,TG	922	HpaI	GTT AAC	4780
BglIII	A`GATC,T	929	PspMI	G`GGCC,C	5075
MunI	C`AATT,G	935	ApaI	G,GGCC`C	5075
EcoRV	GAT ATC	943	BstEII	G`GTNAC,C	5100
FseI	GG,CCGG`CC	948	MluI	A`CGCG,T	5282
AsiSI	GCG,AT`CGC	959	BstAPI	GCAN,NNN`NTGC	5603
ZraI	GAC GTC	968	SphI	G,CATG`C	5811
AatII	G,ACGT`C	966	SgrAI	CR`CCGG,YG	5963
Acc65I	G`GTAC,C	972	BspDI	AT`CG,AT	6007
KpnI	G,GTAC`C	972	ClaI	AT`CG,AT	6007
PspXI	VC`TCGA,GB	978			

➤ pET-Dual-N-GST质粒中推荐的测序引物序列如下:

MCS1-N Primer (626-647): 5'-GCTATCCCACAAATTGATAAGT-3'

MCS1-C Primer (832-813): 5'-GATTATGCGGCCGTGTACAA-3'

MCS2-N Primer (813-832): 5'-TTGTACACGCCGCATAATC-3'

➤ pET-Dual-N-GST的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

➤ 不同原核表达质粒的比较和选择,以及标签、蛋白酶切位点和蛋白共表达的考虑可以参考如下网页:

<http://www.beyotime.com/support/prokaryotic-plasmids.htm>

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2931-1μg	pET-Dual-N-GST	1μg
D2931-100μg	pET-Dual-N-GST	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. pET-Dual-N-GST质粒在其多克隆位点适当酶切后可以插入待表达的目的基因,构建的质粒可以用常规方法转入表达菌株。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D2902-1μg	pET-N-His-C-His	1μg
D2902-100μg	pET-N-His-C-His	100μg
D2905-1μg	pET-N-His-TEV	1μg
D2905-100μg	pET-N-His-TEV	100μg
D2908-1μg	pET-N-His-Thrombin-C-His	1μg
D2908-100μg	pET-N-His-Thrombin-C-His	100μg
D2911-1μg	pET-N-GST-Thrombin-C-His	1μg
D2911-100μg	pET-N-GST-Thrombin-C-His	100μg
D2916-1μg	pET-N-GST-PreScission	1μg
D2916-100μg	pET-N-GST-PreScission	100μg
D2931-1μg	pET-Dual-N-GST	1μg
D2931-100μg	pET-Dual-N-GST	100μg
D2933-1μg	pET-Dual-N-GST-PreScission	1μg
D2933-100μg	pET-Dual-N-GST-PreScission	100μg
P2210	BeyoGold™ His-tag Purification Resin	10ml
P2218	BeyoGold™ His-tag Purification Resin	100ml
P2220	BeyoGold™ His-tag Purification Resin	1000ml
P2226	His标签蛋白纯化试剂盒	10ml
P2251	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	10ml
P2253	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	100ml
P2255	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	1000ml
P2262	GST标签蛋白纯化试剂盒	10ml
P2302	PreScission Protease	100U
P2303	PreScission Protease	500U
P2307	TEV Protease	1000U
P2308	TEV Protease	10000U
AH367	His-tag 抗体	>20次
AG768	GST抗体	>20次
AF0174	GST Mouse Monoclonal Antibody	50μl

Version 2021.03.22