

pET-Dual-N-GST-PreScission

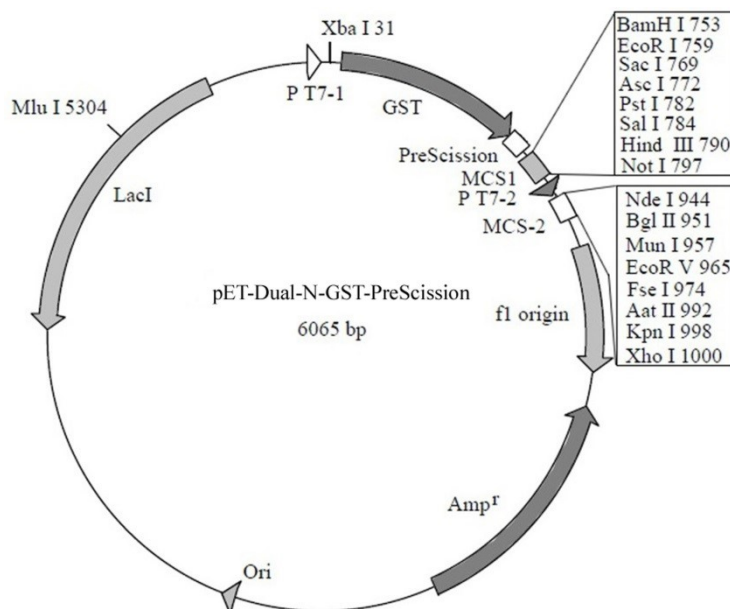
产品编号	产品名称	包装
D2933-1 μ g	pET-Dual-N-GST-PreScission	1 μ g
D2933-100 μ g	pET-Dual-N-GST-PreScission	100 μ g

产品简介:

- pET-Dual-N-GST-PreScission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，其中一种可以带上GST标签 (Glutathione *S*-transferase tag, GST tag)并且GST标签后有PreScission蛋白酶的酶切位点。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，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。本质粒的N端GST标签与第一个多克隆位点之间有PreScission蛋白酶识别的八肽序列LEVLFGQP，对应核酸序列为CTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCC，配合使用碧云天生产的PreScission Protease (P2302/P2303) 4 $^{\circ}$ 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标签和PreScission识别位点的目的蛋白。
- pET-Dual-N-GST-PreScission质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
T7 transcription start-1		1
GST-taq coding sequence		71-727
PreScission Protease recognition site sequence		728-751
Multiple cloning sites-1(BamH I – NotI)		752-802
T7 promoter-2		859-875
T7 transcription start-2		876
Multiple cloning sites-2(Nde I – XhoI)		943-1004
S Tag coding sequence		1011-1055
T7 terminator		1107-1154
f1 origin		1192-1639
bla(Ap) coding sequence		1764-2621
pBR322 origin		3382
<i>lacI</i> coding sequence		4576-5658
T7 promoter-1		6049-6065

- pET-Dual-N-GST-PreScission质粒(6065bp)的图谱如下：



➤ pET-Dual-N-GST-PreScission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 GAGATATAACC ATGGGCTCCC CTATACTAGG TTATTGGAAA
   GAAATTC TTC TCTATATGG TACCCGAGGG GATATGATCC AATAACCTTT

101 ATTAAGGGCC TTGTGCAACC CACTCGACTT CTTTGGGAAT ATCTTGAAGA
   TAATTCCTCGG AACACGTTGG GTGAGCTGAA GAAAACCTTA TAGAACTTCT

151 AAAATATGAA GAGCATTTGT ATGAGCGCGA TGAAGGTGAT AAATGGCGAA
   TTTTATACTT CTCGTAAACA TACTCGCGCT ACTTCCACTA TTTACCGCTT

201 ACAAAAAGTT TGAATTGGGT TTGGAGTTTC CCAATCTTCC TTATTATATT
   TGTTTTTCAA ACTTAACCCA AACCTCAAAG GGTTAGAAGG AATAATATAA

251 GATGGTGATG TTAAATTAAC ACAGTCTATG GCCATCATA CTTATATAGC
   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 CCCAATGTGC CTGGATGCGT TCCCAAATTT
   CTACAACAAA ATATGTACCT GGGTTACACG GACCTACGCA AGGGTTTTTAA

601 AGTTTGTTTT AAAAAACGTA TTGAAGCTAT CCCACAAATT GATAAGTACT
   TCAAACAAA TTTTGTGCAT AACTTCGATA GGGTGTTTAA CTATTCATGA

651 TGAAATCCAG CAAGTATATA GCATGGCCTT TGCAGGGCTG GCAAGCCACG
   ACTTTAGGTC GTTCATATAT CGTACCGGAA ACGTCCCGAC CGTTCGGTGC

    PreScission
701 TTTGGTGGTG GCGACCATCC TCCAAAAC TG GAAGTCTGT TCCAGGGGCC
   AAACCACCAC CGCTGGTAGG AGGTTTTGAC CTCAAGACA AGGTCCCCGG
                                     NotI

    BamHI EcoRI SacI AscI PstI SalI HindIII
751 CGGATCCGAA TTCGAGCTCG GCGCGCCTGC AGGTCGACAA GCTTGC GGCC
   GCCTAGGCTT AAGCTCGAGC CGCGCGGACG TCCAGCTGTT CGAACGCCGG

801 GCTAATGCTT AAGTCGAACA GAAAGTAATC GTATTGTACA CGGCCGATA
   CGATTACGAA TTCAGCTTGT CTTTCATTAG CATAACATGT GCCGGCGTAT

    T7 transcription-2
    T7 promoter2      Lac operator
851 ATCGAAATTA ATACGACTCA CTATAGGGGA ATGTGAGCG GATAACAATT
   TAGCTTTAAT TATGCTGAGT GATATCCCCT TAACACTCGC CTATTGTTAA

    rbs                NdeI BglII
901 CCCCATCTTA GTATATTAGT TAAGTATAAG AAGGAGATAT ACATATGGCA
   GGGGTAGAAT CATATAATCA ATTCATATTC TTCTCTATA TGTATACCGT

    MunI EcoRV FseI AatII KpnI XhoI
951 GATCTCAATT GGATATCGGC CGGCCACGCG ATCGCTGACG TCGGTACCCT
   CTAGAGTTAA CCTATAGCCG GCCGGTGCGC TAGCGACTGC AGCCATGGGA
  
```

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

AgeI	AleI	BbvCI	BmgBI	BmtI	BseRI	BsiWI
BsmI	Bsu36I	CspCI	NheI	NruI	NsiI	PmeI
PmlI	PspAI	RsrII	SacII	SexAI	SfiI	SmaI
SnaBI	SpeI	SrfI	StuI	TspMI	XmaI	

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

XbaI	T`CTAG, A	30	PspXI	VC`TCGA, GB	999
NcoI	C`CATG, G	69	AvaI	C`YCGR, G	999
MscI	TGG CCA	281	BsoBI	C`YCGR, G	999
BstBI	TT`CG, AA	471	Paer7I	C`TCGA, G	999
SwaI	ATTT AAAT	501	XhoI	C`TCGA, G	999
BamHI	G`GATC, C	752	PacI	TTA, AT`TAA	1072
EcoRI	G`AATT, C	758	AvrII	C`CTAG, G	1078
Eco53kI	GAG CTC	766	BlpI	GC`TNA, GC	1096
SacI	G, AGCT`C	764	DraIII	CAC, NNN`GTG	1421
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	770	PsiI	TTA TAA	1549
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	770	SspI	AAT ATT	1629
AscI	GG`CGCG, CC	771	AhdI	GACNN, N`NNGTC	1833
PstI	C, TGCA`G	777	BsaI	GGTCTCN`NNNN,	1895
SbfI	CC, TGCA`GG	777	BglI	GCCN, NNN`NGGC	1951
SalI	G`TCGA, C	783	FspI	TGC GCA	2056
HindIII	A`AGCT, T	789	AlwNI	CAG, NNN`CTG	3027
NotI	GC`GGCC, GC	796	BstZ17I	GTA TAC	3672
AflIII	C`TTAA, G	808	Tth111I	GACN`N, NGTC	3697
BsrGI	T`GTAC, A	835	PflFI	GACN`N, NGTC	3697
NdeI	CA`TA, TG	943	Bpu10I	CC`TNA, GC	4334
BglIII	A`GATC, T	950	PpuMI	RG`GWC, CY	4434
MfeI	C`AATT, G	956	HpaI	GTT AAC	4801
EcoRV	GAT ATC	964	BstEII	G`GTNAC, C	5121
FseI	GG, CCGG`CC	969	MluI	A`CGCG, T	5303
AsiSI	GCG, AT`CGC	980	BstAPI	GCAN, NNN`NTGC	5624
ZraI	GAC GTC	989	SphI	G, CATG`C	5832
AatII	G, ACGT`C	987	SgrAI	CR`CCGG, YG	5984
Acc65I	G`GTAC, C	993	ClaI	AT`CG, AT	6028
KpnI	G, GTAC`C	993	BspDI	AT`CG, AT	6028

➤ pET-Dual-N-GST-PreScission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 (853-834): 5'-GATTATGCGGCCGTGTACAA-3'

MCS2-N Primer (834-853): 5'-TTGTACACGCCGCATAATC-3'

➤ pET-Dual-N-GST-PreScission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
D2933-1μg	pET-Dual-N-GST-PreScission	1μg
D2933-100μg	pET-Dual-N-GST-PreScission	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-PreScission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