

pET-His-MCS-Avi (Avi标签原核表达质粒)

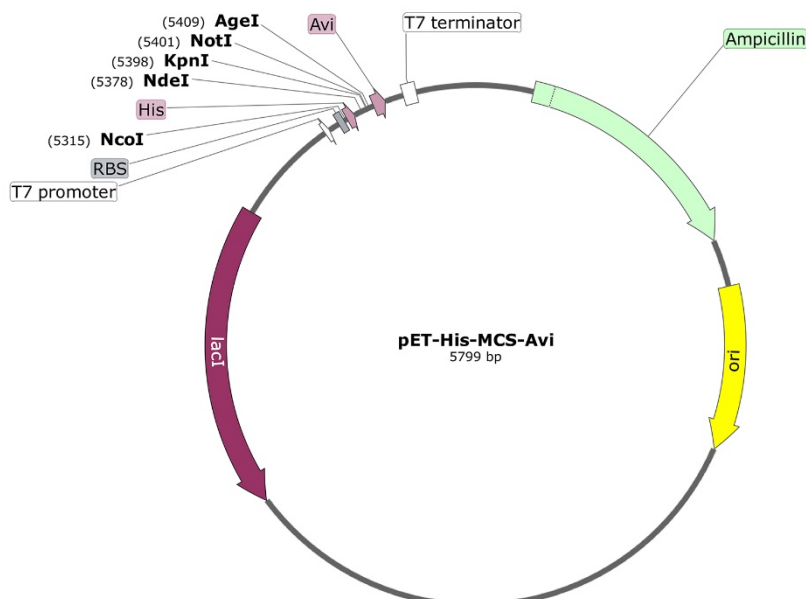
产品编号	产品名称	包装
D3005-1μg	pET-His-MCS-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1μg
D3005-100μg	pET-His-MCS-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100μg

产品简介:

- pET-His-MCS-Avi是碧云天自行研发的用于在大肠杆菌(*E. coli*)中表达可被生物素标记的目的蛋白的原核表达质粒。该质粒在多克隆位点(Multiple cloning sites, MCS)位于His标签(His tag)和Avi标签(Avi tag)之间,目的蛋白表达后在ATP、生物素(Biotin)以及生物素连接酶(Biotin ligase) BirA存在的体外条件下, BirA催化生物素共价结合到目的蛋白N端的Avi标签上,从而对目的蛋白进行生物素标记。本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)抗性。
- Avi标签是由15个氨基酸(GLNDIFEAQKIEWHE)组成的短肽标签,在ATP和生物素存在的条件下, BirA可以在Avi标签的赖氨酸残基上连接一个生物素,从而实现目的蛋白的生物素标记[1]。
- 生物素连接酶BirA特异性生物素标记Avi-tag有多方面的优点。Avi标签小且对融合蛋白的影响非常小,只针对Avi标签上的Lys残基进行特定位置的生物素标记,生物素标记效率高,可重复性好;体内或体外均可进行标记,标记后的蛋白与链霉亲和素(Streptavidin)的亲合力高,从而使Avi-tag技术可以应用于目的蛋白的固定吸附、纯化和检测等;相比于传统生物素化学标记的非特异性位点的标记, BirA催化的反应条件更温和,对被标记蛋白活力影响小,酶活效率高,标记特异性强[1]。
- 本质粒表达的目的蛋白可以采用如BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐还原螯合型) (P2210/P2218/P2220)、His标签蛋白纯化试剂盒(耐还原螯合型) (P2226)以及BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型) (P2233)、His标签蛋白纯化试剂盒(耐变性剂型) (P2229S)等进行纯化。
- pET-His-MCS-Avi质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
Ampicillin		209-1069
ori		1240-1828
lacI		3761-4843
T7 promoter		5230-5248
His tag		5323-5352
Multiple Cloning Sites		5378-5414
Avi tag		5428-5472
T7 Terminator		5540-5587

- pET-His-MCS-Avi质粒(5799bp)的图谱如下:



- pET-His-MCS-Avi表达基因的详细图谱如下:

```

RBS          NcoI          His tag
5301  AAGAAGGAGA TATACCATGG GCCATCATCA TCATCATCAT CATCATCATC
      TTCTTCCTCT ATATGGTACC CGGTAGTAGT AGTAGTAGTA GTAGTAGTAG

          NdeI          KpnI
5351  ACAGCAGCGG CCATATCGAA GGTCGTCATA TGCTCGAGGA TCCGGTACCG
      TGTCGTCGCC GGTATAGCTT CCAGCAGTAT ACGAGCTCCT AGGCCATGGC

NotI       AgeI          Avi tag
5401  CGGCCGCAAC CGGTGGGAGG TGGCGGGGGC CTGAACGATA TTTTGAAGC
      GCCGGCGTTG GCCACCCTCC ACCGCCCCCG GACTTGCTAT AAAAACTTCG

5451  GCAGAAAATT GAATGGCATG AATAAGGATC CGGCTGCTAA CAAAGCCCGA
      CGTCTTTTAA CTTACCGTAC TTATTCCTAG GCCGACGATT GTTTCGGGCT

T7 terminator
5501  AAGGAAGCTG AGTTGGCTGC TGCCACCGCT GAGCAATAAC TAGCATAACC
      TTCCTTCGAC TCAACCGACG ACGGTGGCGA CTCGTTATTG ATCGTATTGG

```

➤ pET-His-MCS-Avi中没有的酶切位点包括:

AanI	AarI	AatI	AbsI	AcvI	AdeI	AflII
AhlI	AjiI	AjuI	AleI	AloI	AscI	AsiSI
AspA2I	AsuII	AsuNHI	AvrII	AxyI	BaeI	BbrPI
BbvCI	BcuI	BfrI	BlnI	BmgBI	BmtI	BplI
Bpu14I	Bse21I	BseRI	BsiWI	Bsp119I	Bsp1407I	BspOI
BspTI	BspT104I	BsrGI	Bst98I	BstAFI	BstAUI	BstBI
BstSNI	Bsu36I	BtrI	Cfr9I	CpoI	CsiI	CspI
Csp45I	CspCI	DraIII	Ecl136II	Eco53kI	Eco72I	Eco81I
Eco105I	Eco147I	EcoICRI	EcoT22I	FalI	FseI	I-CeuI
I-PpoI	I-SceI	KflI	MabI	MauBI	MfeI	Mph1103I
MreI	MspCI	MssI	MunI	Nb.BbvCI	NheI	NsiI
NspV	Nt.BbvCI	OliI	PacI	PalAI	PasI	PceI
Pfl123II	PI-PspI	PI-SceI	PmaCI	PmeI	PmlI	PsiI
Psp124BI	PspCI	PspLI	PsrI	RgaI	RigI	RsrII
Rsr2I	SacI	SalI	SanDI	SbfI	SdaI	SexAI
SfaAI	SfiI	SfuI	SgfI	SgrDI	SgsI	SmaI
SmiI	SnaBI	SpeI	SrfI	Sse8387I	SseBI	SspBI
SstI	StuI	SwaI	TspMI	Vha464I	XmaI	XmaCI
XmaJI	Zsp2I					

➤ pET-His-MCS-Avi中的单酶切位点包括:

AatII	G, ACGT`C	77	KpnI	G, GTAC`C	5398
Acc65I	G`GTAC, C	2116	MluI	A`CGCG, T	4488
AccI	GT`MK, AC	5394	MscI	TGG CCA	2917
AgeI	A`CCGG, T	5409	NcoI	C`CATG, G	5315
AhdI	GACNN, N`NNGTC	996	NdeI	CA`TA, TG	5378
AlwNI	CAG, NNN`CTG	1475	NotI	GC`GGCC, GC	5401
ApaI	G, GGCC`C	4285	NruI	TCG CGA	3389
BclI	T`GATC, A	4474	PaeR7I	C`TCGA, G	5383
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	3305	PciI	A`CATG, T	1884
BglII	A`GATC, T	5210	PflFI	GACN`N, NGTC	2142
BlpI	GC`TNA, GC	5529	PshAI	GACNN NNGTC	3647
Bpu10I	CC`TNA, GC	2779	PspOMI	G`GGCC, C	4281
BsaAI	YAC GTR	930	PspXI	VC`TCGA, GB	5383
BsaI	GGTCTC 7/11	2136	PstI	C, TGCA`G	754
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	3305	PvuI	CG, AT`CG	627
BspQI	GCTCTTCN`NNN,	2001	SacII	CC, GC`GG	5401
BssHII	G`CGCG, C	4077	SapI	GCTCTTCN`NNN,	2001
BstEII	G`GTNAC, C	4306	ScaI	AGT ACT	515
BstZ17I	GTA TAC	2117	SgrAI	CR`CCGG, YG	5169
ClaI	AT`CG, AT	5773	SphI	G, CATG`C	5021
EcoNI	CCTNN`N, NNAGG	4956	SspI	AAT ATT	191
EcoRI	G`AATT, C	5797	Tth111I	GACN`N, NGTC	2142
FspAI	TGC GCA	2907	XbaI	T`CTAG, A	5276
HindIII	A`AGCT, T	5766	XhoI	C`TCGA, G	5383
HpaI	GTT AAC	3986	ZraI	GAC GTC	75

➤ pET-His-MCS-Avi质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

T7-R (5230-5248): 5'-CCCTATAGTGAGTCGTATTA-3'

➤ pET-His-MCS-Avi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
D3005-1 μ g	pET-His-MCS-Avi	1 μ g
D3005-100 μ g	pET-His-MCS-Avi	100 μ g
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ 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1 μ g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. 100 μ g包装的本产品质粒浓度为0.1 μ g/ μ l, 共1ml。可以直接用于酶切或者转化。
3. 本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。

参考文献:

1. Millard G.Cull, Peter J.Schatz. Methods in Enzymology. 2000. Volume 326:430-440.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D3002-1 μ g	pET-N-His-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1 μ g
D3002-100 μ g	pET-N-His-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100 μ g
D3005-1 μ g	pET-His-MCS-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1 μ g
D3005-100 μ g	pET-His-MCS-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100 μ g
D3007-1 μ g	pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒)	1 μ g
D3007-100 μ g	pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒)	100 μ g
D3009-1 μ g	pET-N-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1 μ g
D3009-100 μ g	pET-N-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100 μ g
D3011-1 μ g	pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1 μ g
D3011-100 μ g	pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100 μ g
D3013-1 μ g	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1 μ g
D3013-100 μ g	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100 μ g
D3015-1 μ g	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1 μ g
D3015-100 μ g	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100 μ g
D3017-1 μ g	pET-Dual-His-SUMO3-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1 μ g
D3017-100 μ g	pET-Dual-His-SUMO3-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1 μ g

Version 2021.09.14