



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒)

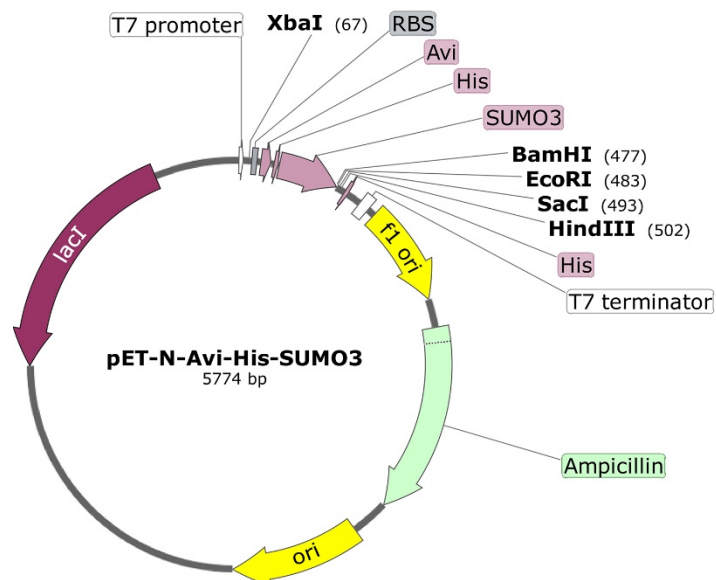
| 产品编号        | 产品名称                              | 包装    |
|-------------|-----------------------------------|-------|
| D3007-1μg   | pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒) | 1μg   |
| D3007-100μg | pET-N-Avi-His-SUMO3 (Avi标签原核表达质粒) | 100μg |

### 产品简介:

- pET-N-Avi-His-SUMO3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。该质粒由T7启动子驱动N端带有Avi标签(Avi tag)、His标签(His tag)以及SUMO3标签(SUMO3 tag)的目的蛋白。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。同时,本质粒带有SUMO3标签,可被rSEN2蛋白酶特异性的识别并切割,从而实现相应标签蛋白与目的蛋白的高效分离。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]。
- 类泛素蛋白修饰分子(Small ubiquitin-like modifier, SUMO),也被称为泛素样修饰因子小蛋白、泛素样小分子修饰因子或小泛素相关修饰物,是广泛存在于真核生物的蛋白家族。和泛素化(Ubiquitination)类似,类泛素蛋白修饰分子通过类泛素蛋白(Ubiquitin-like proteins, Ubls)活化酶(Ubl activating enzyme, E1)、结合酶(Ubl conjugating enzyme, E2)和连接酶(Ubl protein ligase, E3)共价连接到特定蛋白的赖氨酸上,这一过程被称为SUMO化修饰(SUMOylation)。SUMO化修饰是一种翻译后修饰,参与细胞的调控,如细胞核到细胞膜的运输、转录调控、细胞凋亡、蛋白质的稳定、压力应激和细胞周期的调控等[2]。
- SUMO3标签源自人SUMO3基因,在大肠杆菌体系中SUMO3标签可以作为分子伴侣帮助目的蛋白在表达过程中正确折叠,提高目的蛋白的可溶性和表达量。SUMO3标签在体外可以被rSEN2蛋白酶特异性的识别并切割,从而实现SUMO3标签与目的蛋白的高效分离,切割后的目的蛋白不带有相应标签氨基酸的残留,因此SUMO3标签适用于大肠杆菌重组蛋白的表达和纯化[3]。
- 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-N-Avi-His-SUMO3质粒的主要信息如下:

| Feature Nucleotide     | Position  |
|------------------------|-----------|
| T7 promoter            | 21-39     |
| Avi tag                | 120-164   |
| His tag                | 180-197   |
| SUMO3 tag              | 204-479   |
| Multiple Cloning Sites | 477-502   |
| His tag                | 523-540   |
| T7 Terminator          | 607-654   |
| fl origin              | 691-1146  |
| Ampicillin             | 1277-2137 |
| ori                    | 2308-2896 |
| lacI                   | 4326-5408 |

- pET-N-Avi-His-SUMO3质粒(5774bp)的图谱如下:



➤ pET-N-Avi-His-SUMO3表达基因的详细图谱如下:

```

T7 promoter
1 AGATCTCGAT CCCGCGAAAT TAATACGACT CACTATAGGG GAATTGTGAG
  TCTAGAGCTA GGGCGCTTTA ATTATGCTGA GTGATATCCC CTTAACACTC
                                XbaI      RBS
51 CGGATAACAA TTCCCCTCTA GAAATAATTT TGTTTAACTT TAAGAAGGAG
  GCCTATTGTT AAGGGGAGAT CTTTATTAAA ACAAATTGAA ATTCTTCCTC
                                Avi tag
101 ATATACCATG GCGGGTAGCG GCCTGAATGA TATTTTTGAA GCCCAGAAAA
  TATATGGTAC CCGCCATCGC CGGACTTACT ATAAAAACTT CGGGTCTTTT
                                His tag
151 TTGAGTGGCA TGAAGGTGGT ACCATGGGTC ATCACCATCA TCATCACGGA
  AACTCACCGT ACTTCCACCA TGGTACCCAG TAGTGGTAGT AGTAGTGCCT
                                SUMO3 tag
201 GGTATGTCCG AGGAGAAGCC CAAGGAGGGT GTGAAGACAG AGAATGACCA
  CCATACAGGC TCCTCTTCGG GTTCCTCCCA CACTTCTGTC TCTTACTGGT
251 CATCAACCTG AAGGTGGCCG GGCAGGACGG CTCCGTGGTG CAGTTCAAGA
  GTAGTTGGAC TTCACCCGGC CCGTCTGCC  GAGGCACCAC  GTCAAGTTCT
301 TCAAGAGGCA CACGCCGCTG AGCAAGCTGA TGAAGGCCTA CTGCGAGAGG
  AGTTCTCCGT GTGCGGCGAC TCGTTCGACT ACTTCCGGAT GACGCTCTCC
351 CAGGGCTTGT CAATGAGGCA GATCAGATTC AGGTTCGACG GGCAGCCAAT
  GTCCCGAACA GTTACTCCGT CTAGTCTAAG TCCAAGCTGC CCGTCGGTTA
401 CAATGAAACT GACTACTCCAG CACAGCTGGA GATGGAGGAC GAGGACACCA
  GTTACTTTGA CTGTGAGGTC GTGTGACCT CTACCTCTG CTCCTGTGGT
                                BamHI  EcoRI  SacI
451 TCGACGTGTT CCAGCAGCAG ACGGGAGGAT CCGAATTCGA GCTCCGTCGA
  AGCTGCACAA GGTCGTCGTC TGCCCTCCTA GGCTTAAGCT CGAGGCAGCT
                                HindIII  His tag
501 CAAGCTTGCG GCCGCACTCG AGCACCACCA CCACCACCAC TGAGATCCGG
  GTTCGAACGC CGGCGTGAGC TCGTGGTGGT GGTGGTGGTG ACTCTAGGCC

```

pET-N-Avi-His-SUMO3中没有的酶切位点包括:

|          |        |        |        |        |          |         |
|----------|--------|--------|--------|--------|----------|---------|
| AarI     | AatII  | AbsI   | Acc36I | AcvI   | AflII    | AgeI    |
| AhlI     | AjuI   | AleI   | AscI   | AsiGI  | AsiSI    | AspA2I  |
| AsuII    | AsuNHI | AvrII  | AxyI   | BaeI   | BalI     | BanIII  |
| BbrPI    | BbvCI  | BcuI   | BfrI   | BfuAI  | BlnI     | BmtI    |
| BplI     | Bpu14I | BsaI   | Bsa29I | BsaMI  | Bse21I   | BseCI   |
| BshVI    | BshTI  | BsiWI  | BsmI   | Bso31I | Bsp68I   | Bsp119I |
| Bsp1407I | BspDI  | BspMI  | BspOI  | BspTI  | BspT104I | BspTNI  |
| BspXI    | BsrGI  | Bst98I | BstAFI | BstAUI | BstBI    | BstSNI  |
| Bsu15I   | Bsu36I | BsuTUI | BtuMI  | BveI   | Cfr9I    | Cfr42I  |
| ClaI     | CpoI   | CsiI   | CspI   | Csp45I | CspAI    | Eco31I  |

|         |        |          |          |          |          |            |
|---------|--------|----------|----------|----------|----------|------------|
| Eco72I  | Eco81I | Eco105I  | EcoT22I  | FalI     | FauNDI   | FseI       |
| I-CeuI  | I-PpoI | I-SceI   | KflI     | KspI     | MabI     | MauBI      |
| MfeI    | MlsI   | MluNI    | Mph1103I | MreI     | MscI     | Msp20I     |
| MspCI   | MssI   | MunI     | Mva1269I | Nb.BbvCI | Nb.BsmI  | Nb.Mva1269 |
| NdeI    | NheI   | NruI     | NsiI     | NspV     | Nt.BbvCI | OliI       |
| PacI    | PalAI  | PasI     | PctI     | Pfl123II | PI-PspI  | PI-SceI    |
| PinAI   | PmaCI  | PmeI     | PmlI     | PspCI    | PspLI    | PsrI       |
| RgaI    | RigI   | RruI     | RsrII    | Rsr2I    | SacII    | SanDI      |
| SbfI    | SdaI   | SexAI    | SfaAI    | SfiI     | Sfr303I  | SfuI       |
| SgfI    | SgrBI  | SgrDI    | SgsI     | SmaI     | SmiI     | SnaBI      |
| SpeI    | SrfI   | Sse8387I | SspBI    | SstII    | SwaI     | TspMI      |
| Vha464I | XmaI   | XmaCI    | XmaJI    | ZraI     | Zsp2I    |            |

➤ pET-N-Avi-His-SUMO3中的单酶切位点包括:

|         |               |      |         |               |      |
|---------|---------------|------|---------|---------------|------|
| Acc65I  | G`GTAC,C      | 168  | KpnI    | G`GCGC,C      | 172  |
| AhdI    | GACNN,N`NNGTC | 2064 | MluI    | A`CGCG,T      | 5053 |
| AlwNI   | CAG,NNN`CTG   | 2543 | NotI    | GC`GGCC,GC    | 509  |
| ApaI    | G,GGCC`C      | 4850 | PaeR7I  | C`TCGA,G      | 517  |
| AvaI    | C`YCGR,G      | 517  | PciI    | A`CATG,T      | 2952 |
| BamHI   | G`GATC,C      | 477  | PflFI   | GACN`N,NGTC   | 3210 |
| BclI    | T`GATC,A      | 5039 | PflMI   | CCAN,NNN`NTGG | 5478 |
| BglII   | A`GATC,T      | 1    | PpuMI   | RG`GWC,CY     | 3947 |
| BmgBI   | CAC GTC       | 455  | PshAI   | GACNN NNGTC   | 4212 |
| BseRI   | GAGGAG 16/14  | 225  | PsiI    | TTA TAA       | 1049 |
| BsoBI   | C`YCGR,G      | 517  | PspOMI  | G`GGCC,C      | 4846 |
| BspQI   | GCTCTTCN`NNN, | 3069 | PspXI   | VC`TCGA,GB    | 517  |
| BssHII  | G`CGCG,C      | 4642 | PstI    | C,TGCA`G      | 1822 |
| BstAPI  | GCAN,NNN`NTGC | 5377 | PvuI    | CG,AT`CG      | 1695 |
| BstEII  | G`GTNAC,C     | 4871 | SacI    | G,AGCT`C      | 493  |
| BstZ17I | GTA TAC       | 3185 | SalI    | G`TCGA,C      | 496  |
| DraIII  | CAC,NNN`GTG   | 924  | SapI    | GCTCTTCN`NNN, | 3069 |
| EagI    | C`GGCC,G      | 509  | ScaI    | AGT ACT       | 1583 |
| Eco53kI | GAG CTC       | 491  | SgrAI   | CR`CCGG,YG    | 5734 |
| EcoNI   | CCTNN`N,NNAGG | 5521 | SphI    | G,CATG`C      | 5586 |
| EcoRI   | G`AATT,C      | 483  | StuI    | AGG CCT       | 336  |
| EcoRV   | GAT ATC       | 4607 | Tth111I | GACN`N,NGTC   | 3210 |
| HindIII | A`AGCT,T      | 502  | XbaI    | T`CTAG,A      | 67   |
| HpaI    | GTT AAC       | 4551 | XhoI    | C`TCGA,G      | 517  |

➤ pET-N-Avi-His-SUMO3质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

T7-R (21-40): 5'-CCCTATAGTGAGTCGTATTA-3'

➤ pET-N-Avi-His-SUMO3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    |
|-------------|---------------------|-------|
| D3007-1μg   | pET-N-Avi-His-SUMO3 | 1μg   |
| D3007-100μg | pET-N-Avi-His-SUMO3 | 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.
2. Hay RT. Mol Cell. 2005. 18(1):1-12.
3. Marblestone et al., Protein Science.2006. 15:182-189.

**相关产品:**

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

Version 2021.11.30