

pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)

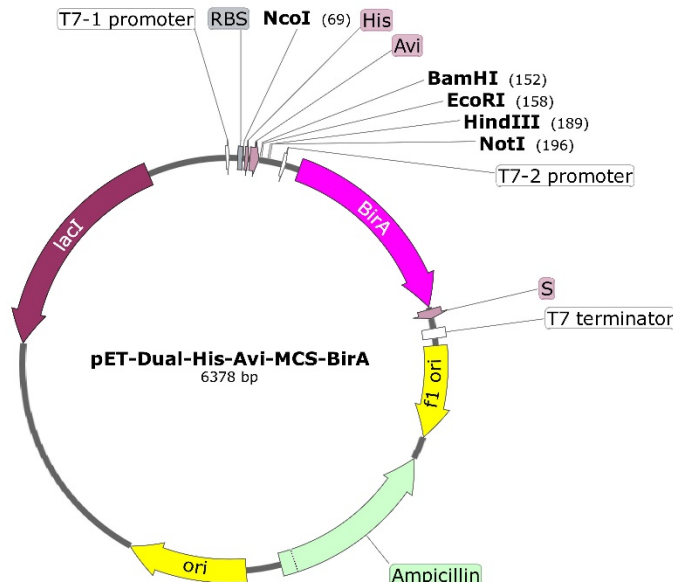
产品编号	产品名称	包装
D3011-1μg	pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1μg
D3011-100μg	pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100μg

产品简介:

- pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA是碧云天自行研发的用于在大肠杆菌(*E.coli*)中表达生物素标记蛋白的质粒。该质粒带有两组T7启动子/*lac*操作子和核糖体结合位点(ribosome binding site, RBS)，其中一组的多克隆位点(multiple cloning sites, MCS)前有His标签(His tag)和Avi标签(Avi tag)，另一组用于表达带有S标签(S tag)的生物素连接酶(biotin ligase) BirA，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和BirA的共表达。在ATP和生物素(Biotin)存在的条件下，细胞内表达的生物素连接酶BirA催化Biotin共价结合到目的蛋白N端的Avi标签上，从而可以在表达目的蛋白的同时进行生物素标记。本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)抗性。
- Avi标签(Avi tag)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，生物素连接酶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。
- 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菌亲和素(Streptavidin)的亲和力高，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。
- pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
T7-1 promoter		6362-6378
His tag		77-94
Avi tag		101-145
Multiple Cloning Sites		152-202
T7-2 promoter		260-278
BirA		349-1311
S tag		1324-1368
T7 Terminator		1420-1467
f1 origin		1504-1959
Ampicillin		2074-2934
ori		3108-3696
lacI		4889-5971

- pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA质粒(6378bp)的图谱如下：



➤ pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA表达基因的详细图谱如下:

```

RBS                NcoI                His tag
51  CTTTAAGAAG GAGATATACC ATGGGCCATC ATCATCACCA TCACGGTTC
    GAAATTCTTC CTCTATATGG TACCCGGTAG TAGTAGTGGT AGTGCCAAGA
    Avi tag
101 GGCCTGAACG ATATTTTTGA AGCGCAGAAA ATTGAATGGC ATGAAGCGG
    CCGGACTTGC TATAAAAACT TCGCGTCTTT TAACTTACCG TACTTCCGCC
    BamHI EcoRI                HindIII NotI
151 CGGATCCGAA TTCGAGCTCG GCGCGCCTGC AGGTCGACAA GCTTGCGGCC
    GCCTAGGCTT AAGCTCGAGC CGCGCGGACG TCCAGCTGTT CGAACGCCGG

201 GCATAATGCT TAAGTCGAAC AGAAAGTAAT CGTATTGTAC ACGGCCGCAT
    CGTATTACGA ATTCAGCTTG TCTTTCATTA GCATAACATG TGCCGGCGTA
    T7-2 promoter
251 AATCGAAATT AATACGACTC ACTATAGGGG AATTGTGAGC GGATAACAAT
    TTAGCTTTAA TTATGCTGAG TGATATCCCC TTAACACTCG CCTATTGTTA
    RBS                BirA
301 TCCCCATCTT AGTATATTAG TTAAGTATAA GAAGGAGATA TACATATGAT
    AGGGGTAGAA TCATATAATC AATTCATATT CTCCTCTAT ATGTATACTA

351 GAAGGACAAT ACCGTGCCTC TGAAACTGAT TGCCCTGCTG GCCAATGGCG
    CTTCTGTGTA TGGCACGGAG ACTTTGACTA ACGGGACGAC CGGTTACCGC
  
```

➤ pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA中没有的酶切位点包括:

AatI	AatII	AbsI	Acc65I	AcvI	AgeI	AhlI
AjiI	AleI	AsiGI	AsiSI	Asp718I	AsuII	AsuNHI
BaeI	BbrPI	BcuI	BglII	BmgBI	BmtI	BoxI
BplI	Bpu14I	BshTI	BsiWI	Bsp68I	Bsp119I	BspOI
BspT104I	BstBI	BstPAI	BstSNI	BtrI	BtuMI	Cfr9I
Cfr42I	CpoI	CspI	Csp45I	CspAI	CspCI	Eco32I
Eco72I	Eco105I	Eco147I	EcoRV	EcoT22I	FalI	FseI
FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KpnI	KspI	MabI
MauBI	MfeI	Mph1103I	MreI	MssI	MunI	NheI
NruI	NsiI	NspV	OliI	PceI	Pfl123II	PI-PspI
PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	PshAI	PspCI
PspLI	PsrI	RgaI	RigI	RsrII	Rsr2I	SacII
SanDI	SexAI	SfaAI	SfiI	Sfr303I	SfuI	SgfI
SgrBI	SgrDI	SmaI	SmiI	SnaBI	SpeI	SrfI
SseBI	SstII	StuI	SwaI	TspMI	XmaI	XmaCI
ZraI	Zsp2I					

➤ pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA中的单酶切位点包括:

AarI	CACCTGCNNNN`NNNN,	1127	NcoI	C`CATG,G	69
AflII	A`CRYG,T	209	NdeI	CA`TA,TG	344
AhdI	GACNN,N`NNGTC	2147	NotI	GC`GGCC,GC	196
AscI	GG`CGCG,CC	171	PacI	TTA,AT`TAA	1387
AvrII	C`CTAG,G	1391	Paer7I	C`TCGA,G	1312
BamHI	G`GATC,C	152	PasI	CC`CWG,GG	432
BbvCI	CC`TCA,GC	829	PciI	A`CATG,T	3752
BlpI	GC`TNA,GC	1409	PflFI	GACN`N,NGTC	4010
BsmI	GAATG,CN`	555	PpuMI	RG`GWC,CY	4747
BspQI	GCTCTTCN`NNN,	3869	PsiI	A`CATG,T	1862
BsrGI	T`GTAC,A	236	PspXI	VC`TCGA,GB	1312
BstAPI	GCAN,NNN`NTGC	5940	PvuI	CG,AT`CG	2517
BstEII	G`GTNAC,C	5434	SacI	G,AGCT`C	168
BstZ17I	GTA TAC	3985	SalI	G`TCGA,C	183
Bsu36I	CC`TNA,GG	1294	SapI	GCTCTTCN`NNN,	3869
DraIII	CAC,NNN`GTG	1737	ScaI	AGT ACT	2627
Eco53kI	GAG CTC	166	SgrAI	CR`CCGG,YG	6297
EcoRI	G`AATT,C	158	SphI	G,CATG`C	9149
FspI	TGC GCA	2369	SspI	AAT ATT	1942
HindIII	A`AGCT,T	189	Tth111I	GACN`N,NGTC	4010
HpaI	GTT AAC	5114	XbaI	T`CTAG,A	30

- pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA质粒中推荐使用的测序引物序列如下：
T7-R (259-279): 5'-CCCTATAGTGAGTCGTATTA-3'
- pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA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
D3011-1μg	pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA	1μg
D3011-100μg	pET-Dual-His-Avi-MCS-BirA	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。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D2971-1μg	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA	1μg
D2971-100μg	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA	100μg
D2973-1μg	pCMV-N-3X Flag-Avi-Neo	1μg
D2973-100μg	pCMV-N-3X Flag-Avi-Neo	100μg