

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

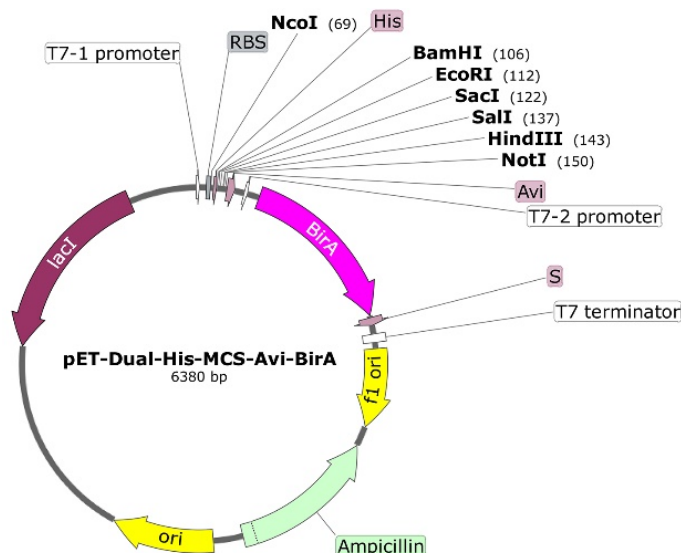
产品编号	产品名称	包装
D3013-1μg	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1μg
D3013-100μg	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100μg

产品简介:

- pET-Dual-His-MCS-Avi-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)位于His标签(His tag)和Avi标签(Avi tag)之间, 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BirA催化生物素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[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-Dual-His-MCS-Avi-BirA质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
T7-1 promoter		6364-2
His tag		83-100
Multiple Cloning Sites		101-160
Avi tag		161-205
T7-2 promoter		262-280
BirA		351-1313
S tag		1326-1370
T7 Terminator		1422-1469
fl origin		1506-1961
Ampicillin		2076-2936
ori		3110-3698
lacI		4891-5973

- pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA质粒(6380bp)的图谱如下:



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

```

RBS                NcoI                His tag
51 CTTTAAGAAG GAGATATACC ATGGGCAGCA GCCATCACCA TCATCACCAC
   GAAATTCTTC CTCTATATGG TACCCGTCGT CGGTAGTGGT AGTAGTGGTG
      BamHI  EcoRI  SacI                SalI  HindIII  NotI
101 AGCCAGGATC CGAATTCGAG CTCGGCGCGC CTGCAGGTCG ACAAGCTTGC
     TCGGTCCTAG GCTTAAGCTC GAGCCGCGCG GACGTCCAGC TGTTCGAACG
      Avitag
151 GGCCGCAGGC GGCCTGAACG ATATTTTTGA AGCGCAGAAA ATTGAATGGC
     CCGGCGTCCG CCGGACTTGC TATAAAAAC TCGCGTCTTT TAACTTACCG

201 ATGAATAATG CTTAAGTCGA ACAGAAAGTA ATCGTATTGT ACACGGCCGC
     TACTTATTAC GAATTCAGCT TGTCTTTCAT TAGCATAACA TGTGCCGGCG
      T7-2 promoter
251 ATAATCGAAA TTAATACGAC TCACTATAGG GGAATTGTGA GCGGATAACA
     TATTAGCTTT AATTATGCTG AGTGATATCC CCTTAACACT CGCCTATTGT

301 ATTCCCATC TTAGTATATT AGTTAAGTAT AAGAAGGAGA TATACATATG
     TAAGGGGTAG AATCATATAA TCAATTCATA TTCTTCCTCT ATATGTATAC
      BirA
351 ATGAAGGACA ATACCGTGCC TCTGAAACTG ATTGCCCTGC TGGCCAATGG
     TACTTCCTGT TATGGCACGG AGACTTTGAC TAACGGGACG ACCGGTTACC

```

➤ pET-Dual-His-MCS-Avi-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	Pfl23II	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-MCS-Avi-BirA中的单酶切位点包括:

AarI	CACCTGCNNNN`NNNN,	1129	NcoI	C`CATG,G	69
AflIII	A`CRYG,T	211	NdeI	CA`TA,TG	346
AhdI	GACNN,N`NNGTC	2149	NotI	GC`GGCC,GC	150
AscI	GG`CGCG,CC	125	PacI	TTA,AT`TAA	1389
AvrII	C`CTAG,G	1393	PaeR7I	C`TCGA,G	1314
BamHI	G`GATC,C	106	PasI	CC`CWG,GG	434
BbvCI	CC`TCA,GC	831	PciI	A`CATG,T	3754
BlpI	GC`TNA,GC	1411	PflFI	GACN`N,NGTC	4012
BsmI	GAATG,CN`	557	PpuMI	RG`GWC,CY	4749
BspQI	GCTCTCN`NNN,	3871	PsiI	A`CATG,T	1864
BsrGI	T`GTAC,A	238	PspXI	VC`TCGA,GB	1314
BstAPI	GCAN,NNN`NTGC	5942	PvuI	CG,AT`CG	2519
BstEII	G`GTNAC,C	5436	SacI	G,AGCT`C	122
BstZ17I	GTA TAC	3987	SalI	G`TCGA,C	137
Bsu36I	CC`TNA,GG	1296	SapI	GCTCTCN`NNN,	3871
DraIII	CAC,NNN`GTG	1739	ScaI	AGT ACT	2629
Eco53kI	GAG CTC	120	SgrAI	CR`CCGG,YG	6299
EcoRI	G`AATT,C	112	SphI	G,CATG`C	6151
FspI	TGC GCA	2371	SspI	AAT ATT	1944
HindIII	A`AGCT,T	143	Tth111I	GACN`N,NGTC	4012
HpaI	GTT AAC	5116	XbaI	T`CTAG,A	30

- pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA质粒中推荐使用的测序引物序列如下：
T7-R (262-281): 5'-CCCTATAGTGAGTCGTATTA-3'
- pET-Dual-His-MCS-Avi-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
D3013-1μg	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA	1μg
D3013-100μg	pET-Dual-His-MCS-Avi-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。

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
D3002-1μg	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 (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
D3013-1μg	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1μg
D3013-100μg	pET-Dual-His-MCS-Avi-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100μg
D3015-1μg	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1μg
D3015-100μg	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	100μg
D3017-1μg	pET-Dual-His-SUMO3-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1μg
D3017-100μg	pET-Dual-His-SUMO3-Avi-MCS-BirA (生物素标记原核表达质粒)	1μg