



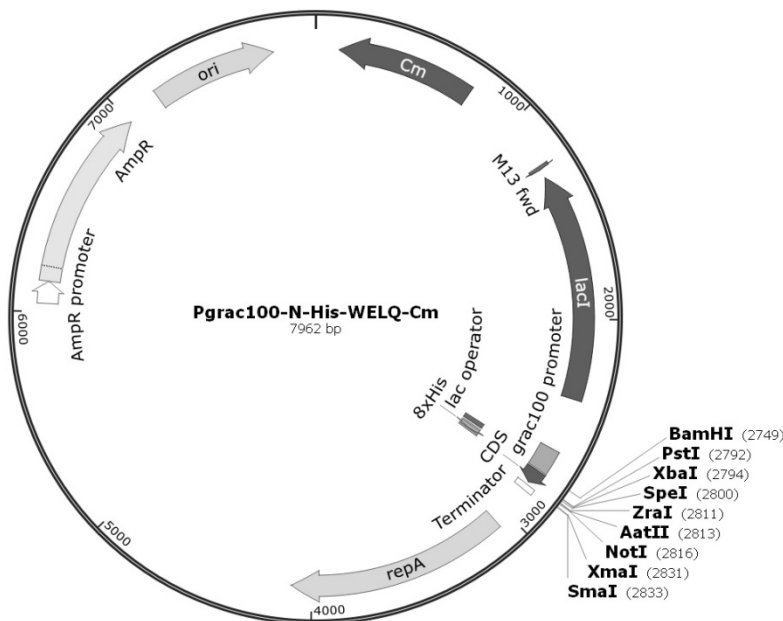
碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

Pgrac100-N-His-WELQ-Cm

产品编号	产品名称	包装
D2523-1μg	Pgrac100-N-His-WELQ-Cm	1μg
D2523-100μg	Pgrac100-N-His-WELQ-Cm	100μg

产品简介:

- Pgrac100-N-His-WELQ-Cm是碧云天研发的一种用于枯草芽孢杆菌表达N端含有His标签(His tag)和WELQ蛋白酶酶切位点的目的蛋白的原核表达质粒。该质粒为大肠杆菌/枯草芽孢杆菌穿梭质粒, 可在大肠杆菌中进行载体构建和扩增并在枯草芽孢杆菌中进行高水平外源蛋白表达。
- 本质粒含有Pgrac100强启动子和Lac操纵子, 可以在异丙基-β-D-硫代半乳糖苷(IPTG)的诱导下高效启动目的基因表达[1, 2]。多克隆位点5'端的His标签编码序列编码8个组氨酸, 紧接着连接12bp的碱基, 翻译出W-E-L-Q四个氨基酸, 可以被WELQ Protease (P2311)识别并在Q残基位点后进行切割。在多克隆位点内按照读码框的方向插入带有终止密码子的目的基因, 就可以表达N端带有His标签和WELQ蛋白酶酶切位点的目的蛋白。
- WELQ蛋白酶能特异性地识别四肽序列Trp-Glu-Leu-Gln (W-E-L-Q), 并对Gln (Q)之后的肽键进行酶切, 常用于重组蛋白除去His或者其它融合标签, 其最突出优势是酶切后不会在目的蛋白的N端留下任何额外的氨基酸残基。
- 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)是工业应用中一种重要的模式菌株, 具有内毒素低、非致病性、遗传背景清晰、分泌蛋白能力强、容易分离培养等特性, 是异源蛋白表达和分泌的理想宿主。由于从枯草芽孢杆菌中提取质粒和构建质粒较为困难, 而在大肠杆菌中操作则更为简单方便, 所以可通过构建大肠杆菌/枯草芽孢杆菌穿梭载体, 先将外源目的基因在大肠杆菌中构建完成后再转入枯草芽孢杆菌中进行外源蛋白表达[3]。
- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)和氯霉素(Chloramphenicol)双抗性, 在大肠杆菌中进行质粒扩增时, 推荐氨苄青霉素筛选浓度为100μg/ml, 在枯草芽孢杆菌中进行蛋白表达时, 推荐氯霉素筛选浓度为5μg/ml [4]。
- 本质粒适用于转化枯草芽孢杆菌168Δ4菌株(D0441), 在转化枯草芽孢杆菌感受态细胞时, 建议做一组不转化质粒的阴性对照, 防止出现抗生素浓度低, 对宿主无效的情况。根据阴性对照实际情况, 再适当调整抗生素的使用浓度。枯草芽孢杆菌转化推荐使用碧云天枯草芽孢杆菌感受态制备试剂盒(D0312)。
- Pgrac100-N-His-WELQ-Cm质粒(7962bp)的图谱如下:



- Pgrac100-N-His-WELQ-Cm质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
Chloramphenicol resistance ORF (Cm)		113-763
lacI		1298-2380
Pgrac100		2632-2748

Lac operator	2709-2733
Ribosome-binding site (RBS)	2739-2746
8X His	2758-2781
WELQut site	2782-2793
Multiple cloning sites (MCS)	2794-2822
Terminator	2839-2864
repA	3065-4098
AmpR promoter	6039-6143
AmpR resistance ORF	6144-7004
ori	7175-7763

➤ *Pgrac100*-N-His-WELQ-Cm的多克隆位点的详细图谱如下:

<i>grac100</i> promoter	
2632	AGGAGGTAAG GATCACTAGA AAATTTTTTA AAAAATCTCT TGACATTGGA TCCTCCATTCT CTAGTGATCT TTTAAAAAAT TTTTAGAGA ACTGTAACCT
Lac operator	
2682	AGGGAGATAT GTTATTATAA GAATTGCGGA ATTGTGAGCG GATAACAATT TCCCTCTATA CAATAATATT CTTAACGCCT TAACACTCGC CTATTGTTAA
RBS BamHI 8×His	
2732	CCCATATAAA GGAGGAAGGA TCCATGCATC ACCATCACCA TCACCATCAC GGGTATATTT CCTCCTTCCT AGGTACGTAG TGGTAGTGGT AGTGGTAGTG
WELQ site XbaI SpeI AatII NotI XmaI/SmaI	
2782	TGGGAAGTGC AGTCTAGAAC TAGTGTGCGAC GTCGCGGCCG CATAACGTCC ACCCTTGACG TCAGATCTTG ATCACAGCTG CAGCGCCGGC GTATTGCAGG
Terminator	
2832	CCGGGGCAGC CCGCCTAATG AGCGGGCTTT TTT GGCCCCGTCG GCGCGATTAC TCGCCCGAAA AAA

➤ *Pgrac100*-N-His-WELQ-Cm中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AccIII	Acc36I	AccB7I	AcvI	AdeI
AfeI	AgeI	AleI	AloI	Aor13HI	Aor51HI	AscI
AsiGI	AsiSI	AspI	AspA2I	AvrII	AxyI	BaeI
BalI	BarI	BbrPI	BbvCI	BfuAI	BlnI	BlpI
BoxI	Bpu1102I	BsaMI	Bse21I	BseAI	BshTI	BsmI
Bsp13I	Bsp68I	Bsp1407I	Bsp1720I	BspEI	BspMI	BsrGI
BssNAI	Bst1107I	BstAUI	BstENI	BstPAI	BstZ17I	Bsu36I
BtuMI	BveI	CelII	Cfr42I	CpoI	CspI	CspAI
DraII	DraIII	Eco47III	Eco72I	Eco81I	EcoNI	EcoO109I
FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI	Kpn2I
KspI	MauBI	MlsI	MluNI	MreI	MroI	MroNI
MscI	Msp20I	MssI	Mva1269I	NaeI	NgoMIV	NruI
OliI	PacI	PalAI	PasI	PctI	PdiI	PflFI
PflMI	PfoI	PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI
PmlI	PpuMI	PshAI	Psp5II	PspCI	PspPPI	PspXI
PsrI	PsyI	RgaI	RigI	RruI	RsrII	Rsr2I
SacII	SanDI	SbfI	SdaI	SfaAI	SfiI	Sfr303I
SgfI	SgrAI	SgrBI	SgrDI	SgsI	Srfl	Sse8387I
SspBI	SstII	Tth111I	Van91I	XagI	XmaJI	

➤ *Pgrac100*-N-His-WELQ-Cm中的单酶切位点包括:

AatII	Acc65I	AflII	AhdI	ApaI	BamHI	BmgBI
BmtI	Bpu10I	BsaI	BsaBI	BseRI	BsiWI	BspDI
BssHII	BstAPI	BstEII	ClaI	DrdI	EagI	Eco53kI
EcoRV	HpaI	KasI	KpnI	MfeI	NarI	NheI
NotI	PaeR7I	PluTI	PspOMI	PstI	SacI	SexAI
SfoI	SmaI	SnaBI	SpeI	SphI	TspMI	XbaI
XhoI	XmaI	ZraI				

➤ *Pgrac100*-N-His-WELQ-Cm推荐的测序引物序列如下:

Forward primer (2598-2617): 5'-GACCTCGTTTCCACCGGAAT-3'

Reverse primer (3099-3118): 5'-TCTTCTTCCGTGATTCTTG-3'

➤ *Pgrac100*-N-His-WELQ-Cm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
D2523-1μg	<i>Pgrac100</i> -N-His-WELQ-Cm	1μg
D2523-100μg	<i>Pgrac100</i> -N-His-WELQ-Cm	100μg
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃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0.5μg/μl，可以直接用于酶切或者转化。
3. *Pgrac100*-N-His-WELQ-Cm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进行表达纯化。

参考文献：

1. Phan TT, Tran LT, Schumann W. Microb Cell Fact. 2015. 14(1).72.
2. Phan TT, Nguyen HD, Schumann W. J Biotechnol. 2012,157(1):167-172.
3. 熊海涛, 韦宇拓. 广西科学. 2018. 25(03):233-241.
4. Zhang XZ, Zhang Y. Microb Biotechnol. 2011. 4(1):98-105.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0312	枯草芽孢杆菌感受态制备试剂盒	20次/100次
D0441	枯草芽孢杆菌168 Δ 4甘油菌	200μl
D0442	枯草芽孢杆菌WB800甘油菌	200μl
D2521	<i>Pgrac100</i> -C-His-Cm	1μg/100μg
D2522	<i>Pgrac100</i> -amyQ-C-His-Cm	1μg/100μg
D2523	<i>Pgrac100</i> -N-His-WELQ-Cm	1μg/100μg
D2524	<i>Pgrac100</i> -amyQ-N-His-WELQ-Cm	1μg/100μg
D2525	<i>Pgrac100</i> -C-His-Tet	1μg/100μg
D2526	<i>Pgrac100</i> -amyQ-C-His-Tet	1μg/100μg
ST1150	氯霉素(≥98%, Reagent grade)	5g/25g/100g

Version 2025.02.06