



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-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)

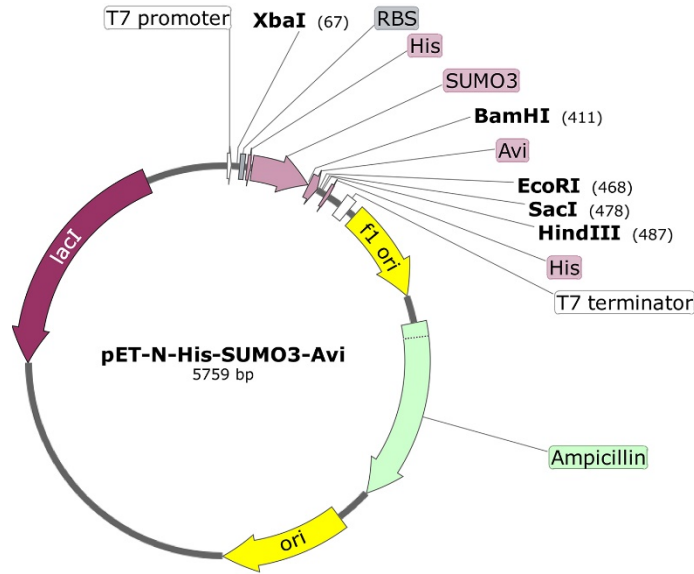
产品编号	产品名称	包装
D3009-1μg	pET-N-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1μg
D3009-100μg	pET-N-His-SUMO3-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100μg

产品简介:

- pET-N-His-SUMO3-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。该质粒由T7启动子驱动N端带有His标签(His tag)、SUMO3标签(SUMO3 tag)以及Avi标签(Avi 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rSENP2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(GLNDIFEAKIEWHE)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rSENP2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-His-SUMO3-Avi质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
T7 promoter	21-39
His tag	114-131
SUMO3 tag	138-413
Avi tag	417-461
Multiple Cloning Sites	468-492
His tag	508-525
T7 Terminator	592-639
fl origin	676-1131
Ampicillin	1262-2122
ori	2293-2881
lacI	4311-5393

- pET-N-His-SUMO3-Avi质粒(5759bp)的图谱如下:



➤ pET-N-His-SUMO3-Avi表达基因的详细图谱如下:

```

His tag                               SUMO3 tag
101 ATATACCATG GGCATCACC ATCATCATCA CGGAGGTATG TCCGAGGAGA
    TATATGGTAC CCAGTAGTGG TAGTAGTAGT GCCTCCATAC AGGCTCCTCT

151 AGCCCAAGGA GGGTGTGAAG ACAGAGAATG ACCACATCAA CCTGAAGGTG
    TCGGGTTCCT CCCACACTTC TGTCTCTTAC TGGTGTAGTT GGACTTCCAC

201 GCCGGGCAGG ACGGCTCCGT GGTGCAGTTC AAGATCAAGA GGCACACGCC
    CGGCCCGTCC TGCCGAGGCA CCACGTCAAG TTCTAGTTCT CCGTGTGCGG

251 GCTGAGCAAG CTGATGAAGG CCTACTGCGA GAGGCAGGGC TTGTCAATGA
    CGACTCGTTC GACTACTTCC GGATGACGCT CTCCGTCCCG AACAGTTACT

301 GGCAGATCAG ATTCAGGTTC GACGGGCAGC CAATCAATGA AACTGACACT
    CCGTCTAGTC TAAGTCCAAG CTGCCCGTCC GTTAGTTACT TTGACTGTGA

351 CCAGCACAGC TGGAGATGGA GGACGAGGAC ACCATCGACG TGTTCCAGCA
    GGTCGTGTCG ACCTTACCT CCTGCTCCTG TGGTAGCTGC ACAAGGTCGT

    BamHI Avi tag
401 GCAGACGGGA GGATCCGGTC TGAATGATAT TTTCGAAGCC CAGAAAATTG
    CGTCTGCCCT CCTAGGCCAG ACTTACTATA AAAGCTTCGG GTCTTTTAAC

    EcoRI SacI                               HindIII
451 AATGGCATGA AGGCAGCGAA TTCGAGCTCC GTCGACAAGC TTGCGGCCGC
    TTACCGTACT TCCGTCGCTT AAGCTCGAGG CAGCTGTTCG AACGCCGGCG

    His tag
501 ACTCGAGCAC CACCACCACC ACCACTGAGA TCCGGCTGCT AACAAAGCCC
    TGAGCTCGTG GTGGTGGTGG TGGTGACTCT AGGCCGACGA TTGTTTCGGG

    T7 terminator
551 GAAAGGAAGC TGAGTTGGCT GCTGCCACCG CTGAGCAATA ACTAGCATAA
    CTTTCCTTCG ACTCAACCGA CGACGGTGGC GACTCGTTAT TGATCGTATT

601 CCCCTTGGGG CCTCTAAACG GGTCTTGAGG GGTTTTTTGC TGAAAGGAGG
    GGGGAACCCC GGAGATTTGC CCAGAACTCC CCAAAAAACG ACTTTCCTCC

    fl origin
651 AACTATATCC GGATTGGCGA ATGGGACGCG CCCTGTAGCG GCGCATTAAAG
    TTGATATAGG CCTAACCGCT TACCCTGCGC GGGACATCGC CGCGTAATTC

701 CGCGGCGGGT GTGGTGGTTA CGCGCAGCGT GACCGCTACA CTTGCCAGCG
    GCGCCGCCCA CACCACCAAT GCGCGTCGCA CTGGCGATGT GAACGGTCCG
  
```

➤ pET-N-His-SUMO3-Avi中没有的酶切位点包括:

AarI	AatII	AbsI	Acc36I	Acc65I	AcvI	AflII
AgeI	AhlI	AjuI	AleI	AscI	AsiGI	AsiSI
Asp718I	AspA2I	AsuNHI	AvrII	AxyI	BaeI	BalI
BanIII	BbrPI	BbvCI	BcuI	BfrI	BfuAI	BlnI
BmtI	BplI	BsaI	Bsa29I	BsaMI	Bse21I	BseCI
BshVI	BshTI	BsiWI	BsmI	Bso31I	Bsp68I	Bsp1407I

BspDI	BspMI	BspOI	BspTI	BspTNI	BspXI	BsrGI
Bst98I	BstAFI	BstAUI	BstSNI	Bsu15I	Bsu36I	BsuTUI
BtuMI	BveI	Cfr9I	Cfr42I	ClaI	CpoI	CsiI
CspI	CspAI	Eco31I	Eco72I	Eco81I	Eco105I	EcoT22I
FalI	FauNDI	FseI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI
KpnI	KspI	MabI	MauBI	MfeI	MlsI	MluNI
Mph1103I	MreI	MscI	Msp20I	MspCI	MssI	MunI
Mva1269I	Nb.BbvCI	Nb.BsmI	Nb.Mva1269	NdeI	NheI	NruI
NsiI	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	SgfI	SgrBI	SgrDI	SgsI	SmaI
SmiI	SnaBI	SpeI	SrfI	Sse8387I	SspBI	SstII
SwaI	TspMI	Vha464I	XmaI	XmaCI	XmaJI	ZraI
Zsp2I						

➤ pET-N-His-SUMO3-Avi中的单酶切位点包括:

AhdI	GACNN, N`NNGTC	2049	HpaI	GTT AAC	4536
AlwNI	CAG, NNN`CTG	2528	MluI	A`CGCG, T	5038
ApaI	G, GGCC`C	4835	NcoI	C`CATG, G	106
AvaI	C`YCGR, G	502	NotI	GC`GGCC, GC	494
BamHI	G`GATC, C	411	PaeR7I	C`TCGA, G	502
BclI	T`GATC, A	5024	PciI	A`CATG, T	2937
BglII	A`GATC, T	1	PflFI	GACN`N, NGTC	3195
BmgBI	CAC GTC	389	PflMI	CCAN, NNN`NTGG	5463
Bpu10I	CC`TNA, GC	3832	PpuMI	RG`GWC, CY	3932
BseRI	GAGGAG 16/14	159	PshAI	GACNN NNGTC	4197
BsoBI	C`YCGR, G	502	PsiI	TTA TAA	1034
BspQI	GCTCTTCN`NNN,	3054	PspOMI	G`GGCC, C	4831
BssHII	G`CGCG, C	4627	PspXI	VC`TCGA, GB	502
BstAPI	GCAN, NNN`NTGC	5362	PstI	C, TGCA`G	1807
BstBI	TT`CG, AA	433	PvuI	CG, AT`CG	1680
BstEII	G`GTNAC, C	4856	SacI	G, AGCT`C	478
BstZ17I	GTA TAC	3170	SalI	G`TCGA, C	481
DraIII	CAC, NNN`GTG	909	SapI	GCTCTTCN`NNN,	3054
EagI	C`GGCC, G	494	ScaI	AGT ACT	1568
Eco53kI	GAG CTC	476	SgrAI	CR`CCGG, YG	5719
EcoNI	CCTNN`N, NNAGG	5506	SphI	G, CATG`C	5571
EcoRI	G`AATT, C	468	StuI	AGG CCT	270
EcoRV	GAT ATC	4592	Tth111I	GACN`N, NGTC	3195
FspAI	TGC GCA	3960	XbaI	T`CTAG, A	67
HindIII	A`AGCT, T	487	XhoI	C`TCGA, G	502

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

T7-R (21-39): 5'-CCCTATAGTGAGTCGTATTA-3'

➤ pET-N-His-SUMO3-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
D3009-1μg	pET-N-His-SUMO3-Avi	1μg
D3009-100μg	pET-N-His-SUMO3-Avi	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 (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

Version 2021.11.30