



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-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA(生物素标记原核表达质粒)

产品编号	产品名称	包装
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

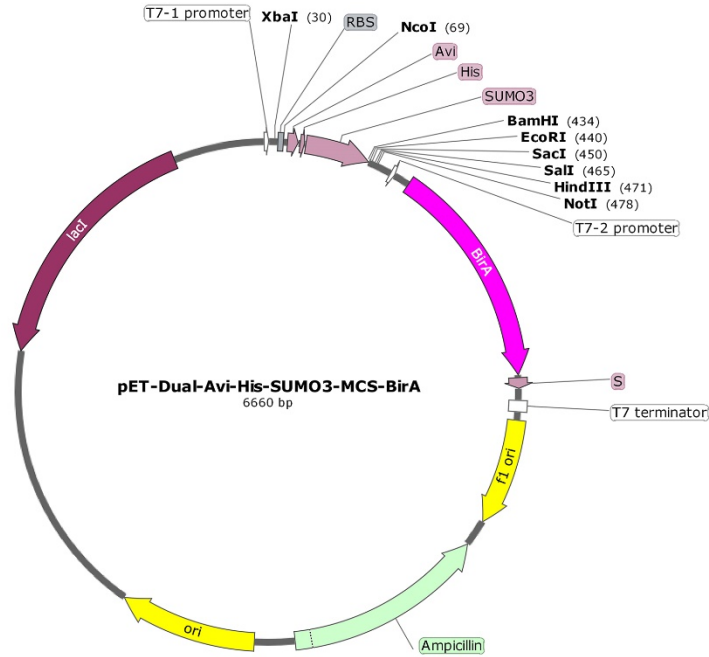
产品简介:

- pET-Dual-Avi-His-SUMO3-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)、Avi标签(Avi tag)和SUMO3标签(SUMO3 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。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(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-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
T7-1 promoter		6664-2
Avi tag		83-127
His tag		137-154
SUMO3 tag		161-436
Multiple Cloning Sites		434-484
T7-2 promoter		542-560
BirA		631-1593
S tag		1606-1650
T7 Terminator		1420-1467
fl origin		1786-2241
Ampicillin		2356-3216
ori		3390-3978
lacI		5171-6253

- pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA质粒(6660bp)的图谱如下:



➤ pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA表达基因的详细图谱如下:

```

SUMO3 tag                               BamHI  EcoRI  SacI
401 GACACCATCG ACGTGTCCA GCAGCAGACG GGAGGATCCG AATTCGAGCT
    CTGTGGTAGC TGCACAAGGT CGTCGTCTGC CCTCCTAGGC TTAAGCTCGA
          Sall  HindIII NotI
451 CGGCGCGCCT GCAGGTCGAC AAGCTTGCGG CCGCATAATG CTTAAGTCGA
    GCCGCGCGGA CGTCCAGCTG TTCGAACGCC GCGGTATTAC GAATTCAGCT
          T7-2 promoter
501 ACAGAAAGTA ATCGTATTGT ACACGGCCGC ATAATCGAAA TTAATACGAC
    TGTCTTTCAT TAGCATAACA TGTGCCGGCG TATTAGCTTT AATTATGCTG

551 TCACTATAGG GGAATTGTGA GCGGATAACA ATTCCCATC TTAGTATATT
    AGTGATATCC CCTTAACACT CGCCTATTGT TAAGGGGTAG AATCATATAA
          BirA
601 AGTTAAGTAT AAGAAGGAGA TATACATATG ATGAAGGACA ATACCGTGCC
    TCAATTCATA TTCTTCCTCT ATATGTATAC TACTTCCTGT TATGGCACGG

651 TCTGAAACTG ATTGCCCTGC TGGCCAATGG CGAGTTCCAC AGCGGCGAGC
    AGACTTTGAC TAACGGGACG ACCGGTTACC GCTCAAGGTG TCGCCGCTCG
  
```

➤ pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA中没有的酶切位点包括:

AatII	AbsI	Acc65I	AcvI	AgeI	AhlI	AleI
AsiGI	AsiSI	Asp718I	AsuII	AsuNHI	BaeI	BbrPI
BcuI	BglII	BmtI	BoxI	BplI	Bpu14I	BshTI
BsiWI	Bsp68I	Bsp119I	BspOI	BspT104I	BstBI	BstPAI
BstSNI	BtuMI	Cfr9I	Cfr42I	CpoI	CsiI	CspI
Csp45I	CspAI	CspCI	Eco32I	Eco72I	Eco105I	EcoRV
EcoT22I	FalI	FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI
KflI	KpnI	KspI	MabI	MauBI	MfeI	Mph1103I
MreI	MssI	MunI	NheI	NruI	NsiI	NspV
OliI	Pf123II	PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI
PmlI	PshAI	PspCI	PspLI	PsrI	RgaI	RigI
RruI	RsrII	Rsr2I	SacII	SanDI	SexAI	SfaAI
SfiI	Sfr303I	SfuI	SgfI	SgrBI	SgrDI	SmaI
SmiI	SnaBI	SpeI	SrfI	SstII	SwaI	TspMI
XmaI	XmaCI	ZraI	Zsp2I			

➤ pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA中的单酶切位点包括:

AflII	A`CRYG,T	491	NotI	GC`GGCC,GC	478
AhdI	GACNN,N`NNGTC	2429	PacI	TTA,AT`TAA	1669
AvrII	C`CTAG,G	1673	PaeR7I	C`TCGA,G	1594
BamHI	G`GATC,C	434	PciI	A`CATG,T	4034

BbvCI	CC`TCA,GC	1111	PflFI	GACN`N,NGTC	4292
BmgBI	CAC GTC	412	PpuMI	RG`GWC,CY	5029
BspQI	GCTCTTCN`NNN,	4151	PsiI	A`CATG,T	2144
BsrGI	T`GTAC,A	518	PspXI	VC`TCGA,GB	1594
BstAPI	GCAN,NNN`NTGC	6222	PvuI	CG,AT`CG	2799
BstEII	G`GTNAC,C	5716	SacI	G,AGCT`C	450
BstZ17I	GTA TAC	4267	SalI	G`TCGA,C	465
Bsu36I	CC`TNA,GG	1576	SapI	GCTCTTCN`NNN,	4151
DraIII	CAC,NNN`GTG	2019	ScaI	AGT ACT	2909
Eco53kI	GAG CTC	448	SgrAI	CR`CCGG,YG	6579
EcoRI	G`AATT,C	440	SphI	G,CATG`C	6431
FspI	TGC GCA	2651	SspI	AAT ATT	2224
HindIII	A`AGCT,T	471	StuI	AGG CCT	293
HpaI	GTT AAC	5396	Tth111I	GACN`N,NGTC	4292
MluI	A`CGCG,T	5898	XbaI	T`CTAG,A	30
NcoI	C`CATG,G	69	XhoI	C`TCGA,G	1594
NdeI	CA`TA,TG	626			

➤ pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA质粒中推荐的测序引物序列如下:

T7-R (542-561): 5'-CCCTATAGTGAGTCGTATTA-3'

➤ pET-Dual-Avi-His-SUMO3-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
D3015-1μg	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-MCS-BirA	1μg
D3015-100μg	pET-Dual-Avi-His-SUMO3-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。

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