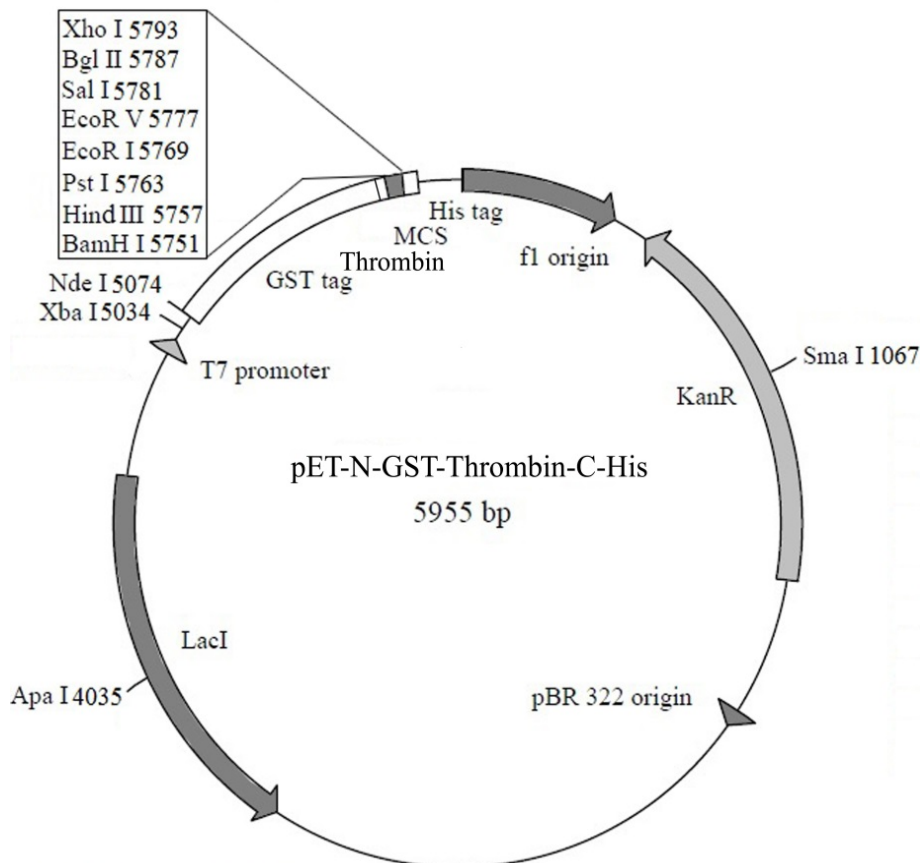


pET-N-GST-Thrombin-C-His

产品编号	产品名称	包装
D2911-1 μ g	pET-N-GST-Thrombin-C-His	1 μ g
D2911-100 μ g	pET-N-GST-Thrombin-C-His	100 μ g

产品简介:

- pET-N-GST-Thrombin-C-His是一种用于表达N端含GST标签(Glutathione S-transferase tag, GST tag)或C端含His标签(His tag)的重组蛋白的原核表达质粒,也可用于表达N端含GST标签并且同时C端含His标签的重组蛋白。GST和His双标签有利于通过GST柱和镍柱两种方法来纯化目的蛋白,使目的蛋白的纯度更高。本质粒N端GST标签后有Thrombin酶切位点,可通过Thrombin蛋白酶切除N端的GST标签。本质粒为卡那霉素抗性。
- 本质粒含有T7启动子/*lac*操纵子,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表达。在多克隆位点的前面有一个GST标签的编码序列,后面有一个His标签的编码序列,后者含有6个组氨酸(6X His)。因此在多克隆位点根据读码框插入不含终止密码子的目的基因就可以表达N端含有GST标签并且C端含有His标签的目的蛋白。也可以在目的基因后面添加终止密码子,这样就可以表达仅在N端含有GST标签的目的蛋白。如果在NdeI和多克隆酶切位点之间按照读码框插入不带有终止密码子的目的基因,这样就可以表达仅C端带有His标签的目的蛋白。
- 本载体在N端GST标签与多克隆位点之间含有Thrombin蛋白酶识别的6肽序列LVPRGS,对应的核酸序列为CTGGTTCCGCGTGGATCC,因此在目的蛋白纯化后可以利用Thrombin酶切除N端的GST标签。Thrombin蛋白酶酶切发生在六肽序列的R和G之间,因此在酶切去除GST标签的时候会在目的蛋白的N端留下两个额外的氨基酸残基GS。
- 通常可以采用如BeyoGold™ GST-tag Purification Resin (P2251/P2253/P2255)、GST标签蛋白纯化试剂盒(P2262)、BeyoGold™ His-tag Purification Resin (P2210/P2218/P2220)或His标签蛋白纯化试剂盒(P2226)等纯化本质粒表达的目的蛋白,也可以使用GST抗体(AG768/AF0174)和His-tag抗体(AH367)检测和少量地分离纯化目的蛋白。
- pET-N-GST-Thrombin-C-His质粒(5955bp)的图谱如下:



➤ pET-N-GST-Thrombin-C-His质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
fl origin		12-467
Kanamycin resistance ORF		563-1645
PBR 322 origin		2084
LacI coding sequence		3518-4597
T7 promoter		4988-5004
GST tag coding sequence		5076-5732
Thrombin recognition site sequence		5739-5756
Multiple cloning site(BamHI-XhoI)		5751-5798
His tag coding sequence		5799-5816
T7 Terminator		5884-5930

➤ pET-N-GST-Thrombin-C-His的多克隆位点的详细图谱如下:

	XbaI		rbs		NdeI
5026	AATTCCCCTC	TAGAAATAAT	TTTGTTTAAC	TTTAAGAAGG	AGATATACAT
	TTAAGGGGAG	ATCTTTATTA	AAACAAATTG	AAATTCCTCC	TCTATATGTA
	GST tag				
5076	ATGATGTCCC	CTATACTAGG	TTATTGGAAA	ATTAAGGGCC	TTGTGCAACC
	TACTACAGGG	GATATGATCC	AATAACCTTT	TAATTCCTCGG	AACACGTTGG
5126	CACTCGACTT	CTTTTGGAAAT	ATCTTGAAGA	AAAATATGAA	GAGCATTTGT
	GTGAGCTGAA	GAAAACCTTA	TAGAACTTCT	TTTATACTT	CTCGTAAACA
5176	ATGAGCGCGA	TGAAGGTGAT	AAATGGCGAA	ACAAAAAGTT	TGAATTGGGT
	TACTCGCGCT	ACTTCCACTA	TTTACCGCTT	TGTTTTTCAA	ACTTAACCCA
5226	TTGGAGTTTC	CCAATCTTCC	TTATTATATT	GATGGTGATG	TTAAATTAAC
	AACCTCAAAG	GTTAGAAGG	AATAATATAA	CTACCACTAC	AATTTAATTG
5276	ACAGTCTATG	GCCATCATAAC	GTTATATAGC	TGACAAGCAC	AACATGTTGG
	TGTCAGATAC	CGGTAGTATG	CAATATATCG	ACTGTTCTGTG	TTGTACAACC
5326	GTGGTTGTCC	AAAAGAGCGT	GCAGAGATTT	CAATGCTTGA	AGGAGCGGTT
	CACCAACAGG	TTTCTCGCA	CGTCTCTAAA	GTTACGAAC	TCCTCGCCAA
5376	TTGGATATTA	GATACGGTGT	TTCGAGAATT	GCATATAGTA	AAGACTTTGA
	AACCTATAAT	CTATGCCACA	AAGCTCTTAA	CGTATATCAT	TTCTGAAACT
5426	AACTCTCAAA	GTTGATTTTC	TTAGCAAGCT	ACCTGAAATG	CTGAAAATGT
	TTGAGAGTTT	CAACTAAAAG	AATCGTTTCGA	TGGACTTTAC	GACTTTTACA
5476	TCGAAGATCG	TTTATGTCAT	AAAACATATT	TAAATGGTGA	TCATGTAACC
	AGCTTCTAGC	AAATACAGTA	TTTTGTATAA	ATTTACCACT	AGTACATTGG
5526	CATCCTGACT	TCATGTTGTA	TGACGCTCTT	GATGTTGTTT	TATACATGGA
	GTAGGACTGA	AGTACAACAT	ACTGCGAGAA	CTACAACAAA	ATATGTACCT
5576	CCCAATGTGC	CTGGATGCGT	TCCCAAAATT	AGTTTGTTTT	AAAAACGTA
	GGGTTACACG	GACCTACGCA	AGGGTTTTAA	TCAAACAAA	TTTTTTGCAT
5626	TTGAAGCTAT	CCCACAAATT	GATAAGTACT	TGAAATCCAG	CAAGTATATA
	AACTTCGATA	GGGTGTTTAA	CTATTCATGA	ACTTTAGGTC	GTTTATATAT
5676	GCATGGCCTT	TGCAGGGCTG	GCAAGCCACG	TTTGGTGGTG	GCGACCATCC
	CGTACCGGAA	ACGTCCCAGC	CGTTCGGTGC	AAACCACCAC	CGCTGGTAGG
		Thrombin		PstI	
		↓ BamHI		HindIII	EcoRI EcoRV
5726	TCCAAAATCG	GATCTGGTTC	CGCGTGGATC	CAAGCTTCTG	CAGGAATTCG
	AGGTTTTTAGC	CTAGACCAAG	GCGCACCTAG	GTTTCAAGAC	GTCCTTAAGC
		SalI	BglIII	XhoI	His tag
5776	ATATCGTCGA	CAGATCTCTC	GAGCACCACC	ACCACCACCA	CTGAGATCCG
	TATAGCAGCT	GTCTAGAGAG	CTCGTGGTGG	TGGTGGTGGT	GACTCTAGGC

➤ pET-N-GST-Thrombin-C-His中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pET-N-GST-Thrombin-C-His)包括:

AatII	Acc65I	AflII	AgeI	AhdI	AleI	AscI
AvrII	BaeI	BbvCI	BfuAI	BmgBI	BmtI	BsaI
BseRI	BsiWI	BspMI	BsrGI	Bsu36I	CspCI	EagI
Eco53kI	FseI	KpnI	MfeI	NcoI	NheI	NotI

PacI	PmeI	PmlI	PspXI	RsrII	SacI	SacII
SbfI	SexAI	SfiI	SnaBI	SpeI	SrfI	StuI
ZraI						

➤ pET-N-GST-Thrombin-C-His中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pET-N-GST-Thrombin-C-His once)包括:

DraIII	CAC, NNN`GTG	242	BstEII	G`GTNAC, C	4060
PsiI	TTA TAA	370	MluI	A`CGCG, T	4242
PvuI	CG, AT`CG	943	BstAPI	GCAN, NNN`NTGC	4563
AsiSI	GCG, AT`CGC	943	SphI	G, CATG`C	4771
SmaI	CCC GGG	1067	SgrAI	CR`CCGG, YG	4923
XmaI	C`CCGG, G	1067	XbaI	T`CTAG, A	5034
TspMI	C`CCGG, G	1069	NdeI	CA`TA, TG	5074
NruI	TCG CGA	1286	MscI	TGG CCA	5286
AcuI	CTGAAG(N) ₁₄ , NN`	1597	BstBI	TT`CG, AA	5476
AlwNI	CAG, NNN`CTG	1729	SwaI	ATTT AAAT	5506
BssSI	C`ACGA, G	1968	ScaI	AGT ACT	5652
BstZ17I	GTA TAC	2374	BamHI	G`GATC, C	5751
Tth111I	GACN`N, NGTC	2399	HindIII	A`AGCT, T	5757
PflFI	GACN`N, NGTC	2399	PstI	C, TGCA`G	5763
PpuMI	RG`GWC, CY	3136	EcoRI	G`AATT, C	5769
FspI	TGC GCA	3164	EcoRV	GAT ATC	5777
BglI	GCCN, NNN`NGGC	3182	SalI	G`TCGA, C	5781
PshAI	GACNN NNGTC	3401	BglII	A`GATC, T	5787
HpaI	GTT AAC	3740	XhoI	C`TCGA, G	5793
BssHII	G`CGCG, C	3831	PaeR7I	C`TCGA, G	5793
ApaI	G, GGCC`C	4035	BlpI	GC`TNA, GC	5872
PspOMI	G`GGCC, C	4035	StyI	C`CWWG, G	5894
NmeAIII	GCCGAG(N) ₁₉ , NN`	4041			

➤ pET-N-GST-Thrombin-C-His质粒中推荐的测序引物序列如下:

pET-F primer (5619-5638): 5'- AAACGTATTGAAGCTATCCC-3'

pET-R primer (5869-5888): 5'-TGCTAGTTATTGCTCAGCGG-3'

➤ pET-N-GST-Thrombin-C-His的全序列信息请参考碧云天网站上该质粒的信息。

➤ 不同原核表达质粒的比较和选择, 以及标签、蛋白酶切位点和蛋白共表达的考虑可以参考如下网页:

<http://www.beyotime.com/support/prokaryotic-plasmids.htm>

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2911-1μg	pET-N-GST-Thrombin-C-His	1μg
D2911-100μg	pET-N-GST-Thrombin-C-His	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染细胞。
3. pET-N-GST-Thrombin-C-His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
D2902-1μg	pET-N-His-C-His	1μg
D2902-100μg	pET-N-His-C-His	100μg
D2905-1μg	pET-N-His-TEV	1μg
D2905-100μg	pET-N-His-TEV	100μg

D2908-1μg	pET-N-His-Thrombin-C-His	1μg
D2908-100μg	pET-N-His-Thrombin-C-His	100μg
D2911-1μg	pET-N-GST-Thrombin-C-His	1μg
D2911-100μg	pET-N-GST-Thrombin-C-His	100μg
D2916-1μg	pET-N-GST-PreScission	1μg
D2916-100μg	pET-N-GST-PreScission	100μg
D2931-1μg	pET-Dual-N-GST	1μg
D2931-100μg	pET-Dual-N-GST	100μg
D2933-1μg	pET-Dual-N-GST-PreScission	1μg
D2933-100μg	pET-Dual-N-GST-PreScission	100μg
P2210	BeyoGold™ His-tag Purification Resin	10ml
P2218	BeyoGold™ His-tag Purification Resin	100ml
P2220	BeyoGold™ His-tag Purification Resin	1000ml
P2226	His标签蛋白纯化试剂盒	10ml
P2251	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	10ml
P2253	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	100ml
P2255	BeyoGold™ GST-tag Purification Resin	1000ml
P2262	GST标签蛋白纯化试剂盒	10ml
P2302	PreScission Protease	100U
P2303	PreScission Protease	500U
P2307	TEV Protease	1000U
P2308	TEV Protease	10000U
AH367	His-tag 抗体	>20次
AG768	GST抗体	>20次
AF0174	GST Mouse Monoclonal Antibody	50μl

Version 2018.05.01