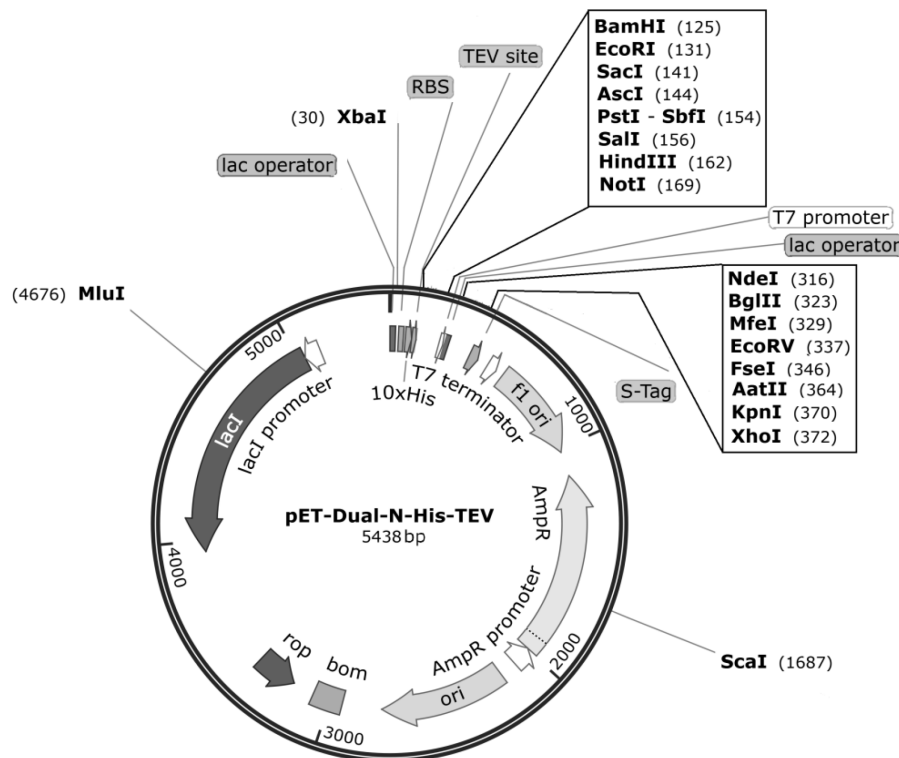


## pET-Dual-N-His-TEV (双蛋白原核表达质粒)

产品编号	产品名称	包装
D2934-1μg	pET-Dual-N-His-TEV (双蛋白原核表达质粒)	1μg
D2934-100μg	pET-Dual-N-His-TEV (双蛋白原核表达质粒)	100μg

### 产品简介:

- pET-Dual-N-His-TEV是一种用于在大肠杆菌中高效共表达两种目的蛋白的质粒。本质粒表达的两种目的蛋白中，其中一种可以带上His标签并且His标签后有TEV蛋白酶的酶切位点。本质粒包含两个多克隆位点(MCS)，每个多克隆位点前都有一个T7启动子/lac操作子和一个核糖体结合位点(Ribosome binding site, rbs)，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的表达。本质粒为氨苄青霉素抗性。
- 在共表达两个目的蛋白的复合物时，通常宜把较难表达的基因克隆到第一个多克隆位点，宜把较易表达的基因克隆到第二个多克隆位点。这样通过镍柱纯化，可分离纯化获得带有His标签的蛋白复合物。本质粒的N端His标签与第一个多克隆位点之间有TEV蛋白酶识别的七肽序列ENLYFQG，对应的核酸序列为GAGAACCTGTACTTCCAAGGG，因此可在目的蛋白复合物纯化后可用TEV蛋白酶切除克隆在第一个多克隆位点目的蛋白的N端的His标签。TEV蛋白酶酶切发生在七肽序列的Q和G之间，因此在酶切去除His标签的时候第一个多克隆位点目的蛋白的N端会留下一个额外的氨基酸残基G。当然，本质粒也可以只在第一个多克隆位点插入目的基因，这样就会仅表达一个含有N端His标签和TEV识别位点的目的蛋白。
- pET-Dual-N-His-TEV质粒(5438bp)的图谱如下:



- pET-Dual-N-His-TEV质粒的主要信息如下:

Feature	Position
lac operator-1	3-27
His-taq	74-103
TEV site sequence	104-124
Multiple cloning sites-1 (BamHI-NotI)	125-168
T7 promoter-2	232-250
lac operator-2	251-275
Multiple cloning sites-2 (NdeI-XhoI)	316-372

S Tag coding sequence	384-428
T7 terminator	480-527
fl origin	564-1019
AmpR coding sequence	1134-1994
pBR322 origin	2168-2756
lacI coding sequence	3949-5031
T7 promoter-1	5422-5438

➤ pET-Dual-N-His-TEV的详细图谱如下:

```

Lac operator-1
1  GGGGAATTGT GAGCGGATAA CAATCCCCT CTAGAAATAA TTTTGTTTAA
   CCCCTTAACA CTCGCCTATT GTTAAGGGA GATCTTTATT AAAACAAAT

rbs His tag
51  CTTTAAGAAG GAGATATACC ATGCATCACC ATCACCATCA CCATCACCAT
   GAAATCTTTC CTCTATATGG TACGTAGTGG TAGTGGTAGT GGTAGTGGTA

TEV Sequence
101  CACGAGAACC TGTACTTCCA AGGGGGATCC GAATTCGAGC TCGGCGCGCC
   GTGCTCTTGG ACATGAAGGT TCCCCCTAGG CTTAAGCTCG AGCCGCGCGG

BamHI EcoRI SacI AscI PstI
NotI
SalI HindIII
151  TGCAGGTCGA CAAGCTTGCG GCCGCTAATG CTTAAGTCGA ACAGAAAGTA
   ACGTCCAGCT GTTCGAACGC CGGCGATTAC GAATTCAGCT TGTCTTTCAT

T7 promoter-2
201  ATCGTATTGT ACACGGCCGC ATAATCGAAA TTAATACGAC TCACTATAGG
   TAGCATAACA TGTGCCGCGC TATTAGCTTT AATTATGCTG AGTGATATCC

Lac operator-2
251  GGAATTGTGA GCGGATAACA ATTCCCATC TTAGTATATT AGTTAAGTAT
   CCTTAACACT CGCCTATTGT TAAGGGGTAG AATCATATAA TCAATTCATA

Rbs NdeI BglIII MfeI EcoRV FseI
301  AAGAAGGAGA TATACATATG GCAGATCTCA ATTGATATC GGCCGGCCAC
   TTCTTCTCT ATATGTATAC CGTCTAGAGT TAACCTATAG CCGGCCGGTG

AatII KpnI XhoI
351  GCGATCGCTG ACGTCGGTAC CCTCGAGTCT GGTAAGAAA
   CGCTAGCGAC TGCAGCCATG GGAGCTCAGA CCATTTCTTT

```

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

AgeI	AleI	BbvCI	BmgBI	BmtI	BseRI	BsiWI
BsmI	BstBI	Bsu36I	CspCI	MscI	NcoI	NheI
NruI	PaqCI	PmeI	PmlI	PshAI	RsrII	SacII
SexAI	SfiI	SmaI	SnaBI	SpeI	SrfI	StuI
SwaI	TspMI	XmaI				

➤ pET-Dual-N-His-TEV中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pET-Dual-N-His-TEV)包括:

AatII	G, ACGT`C	364	EcoRV	GAT ATC	337
Acc65I	G`GTAC,C	366	FseI	GG,CCGG`CC	342
AflII	C`TTAA,G	181	FspI	TGC GCA	1429
AhdI	GACNN,N`NNGTC	1206	HindII	A`AGCT,T	162
AlwNI	CAG,NNN`CTG	2400	HpaI	GTT AAC	4174
ApaI	G,GGCC`C	4469	KpnI	G,GTAC`C	366
AscI	GG`CGCG,CC	144	MfeI	C`AATT,G	329
AsiSI	GCG,AT`CGC	353	MluI	A`CGCG,T	4676
AvaI	C`YCGR,G	376	NdeI	CA`TA,TG	316
AvrII	C`CTAG,G	451	NotI	GC`GGCC,GC	169
BaeI	,(N) <sub>5</sub> `(N) <sub>10</sub> ACNNNNGTAYC(N) <sub>7</sub> ,(N) <sub>5</sub> `	345	NsiI	A,TGCA`T	71
BamHI	G`GATC,C	125	PacI	TTA,AT`TAA	445
BclI	T`GATC,A	4662	Paer7I	C`TCGA,G	372
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	143	PciI	A`CATG,T	2812
BglI	GCCN,NNN`NGGC	1324	PflFI	GACN`N,NGTC	3070
BglIII	A`GATC,T	323	PpuMI	RG`GWC,CY	3807
BlpI	GC`TNA,GC	469	PsiI	TTA TAA	922

Bpu10I	CC`TNA,GC	3707	PspOMI	G`GGCC,C	4469
BsaI	GGTCTCN`NNNN,	1268	PspXI	VC`TCGA,GB	372
BsoBI	C`YCGR,G	372	PstI	C,TGCA`G	150
BspDI	AT`CG,AT	5401	SacI	G,AGCT`C	137
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	143	SalI	G`TCGA,C	156
BspQI	GCTCTTCN`NNN,	2929	SapI	GCTCTTCN`NNN,	2929
BsrGI	T`GTAC,A	208	SbfI	CC,TGCA`GG	150
BstAPI	GCAN,NNN`NTGC	4997	ScaI	AGT ACT	1687
BstEII	G`GTNAC,C	4494	SgrAI	CR`CCGG,YG	5357
BstZ17I	GTA TAC	3045	SphI	G,CATG`C	5205
BtgI	C`CRYG,G	5239	SspI	AAT ATT	1002
ClaI	AT`CG,AT	5401	Tth111I	GACN`N,NGTC	3070
DraIII	CAC,NNN`GTG	794	XbaI	T`CTAG,A	30
Eco53kI	GAG CTC	139	XhoI	C`TCGA,G	372
EcoNI	CCTNN`N,NNAGG	5144	ZraI	GAC GTC	362
EcoRI	G`AATT,C	131			

➤ pET-Dual-N-His-TEV质粒可使用的测序引物序列如下:

MCS1-N Primer (5391-5409): 5'-AGGATCGAGATCGATCTCG-3'

MCS1-C Primer (226-207): 5'-GATTATGCGGCCGTGTACAA-3'

MCS2-N Primer (207-226): 5'-TTGTACACGCGCCGATAATC-3'

➤ pET-Dual-N-His-TEV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
D2934-1μg	pET-Dual-N-His-TEV	1μg
D2934-100μg	pET-Dual-N-His-TEV	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。可以直接用于酶切等后续用途。
3. pET-Dual-N-His-TEV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化入表达菌株。

### 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 2021.10.01