

## pET-N-His-Avi (Avi 标签原核表达质粒)

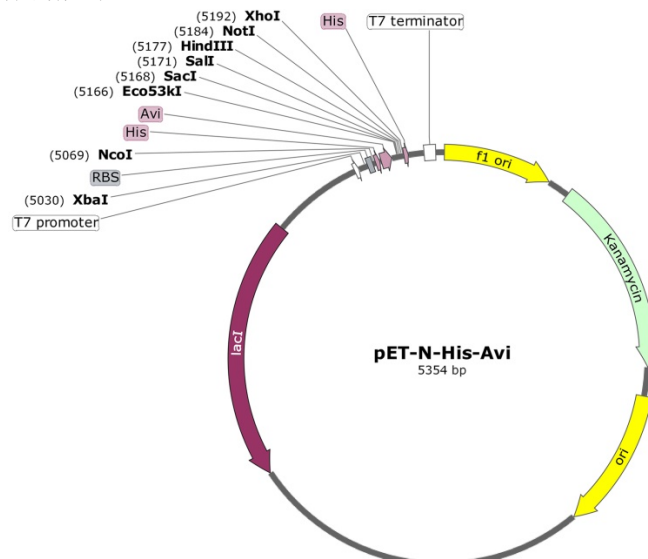
产品编号	产品名称	包装
D3002-1μg	pET-N-His-Avi (Avi标签原核表达质粒)	1μg
D3002-100μg	pET-N-His-Avi (Avi标签原核表达质粒)	100μg

### 产品简介:

- pET-N-His-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。该质粒在多克隆位点(Multiple cloning sites, MCS)之前含有His标签(His tag)和Avi标签(Avi tag), 目的蛋白表达后在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。本质粒为卡那霉素(Kanamycin)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]。
- 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-Avi质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
f1 ori		12-467
Kanamycin		560-1375
ori		1467-2085
bom		2271-2413
rop		2515-2706
lacI		3515-4597
T7 promoter		4984-5002
lac operater		5003-5027
His tag		5077-5094
Avi tag		5101-5145
Multiple cloning site		5164-5197
His tag		5198-5215
T7 terminator		5282-5329

- pET-N-His-Avi质粒(5354bp)的图谱如下:



➤ pET-N-His-Avi表达基因的详细图谱如下:

T7 promoter

4951 GCGTAGAGGA TCGAGATCTC GATCCC GCGA AATTAATACG ACTCACTATA  
CGCATCTCCT AGCTCTAGAG CTAGGGCGCT TTAATTATGC TGAGTGATAT

XbaI

5001 GGGGAATTGT GAGCGGATAA CAATTCCCCT CTAGAAATAA TTTTGTTTAA  
CCCCTTAACA CTCGCCTATT GTTAAGGGGA GATCTTTATT AAAACAAATT

NcoI His tag

5051 CTTTAAGAAG GAGATATACC ATGGGCCATC ATCATCACCA TCACGGTTCT  
GAAATTCTTC CTCTATATGG TACCCGGTAG TAGTAGTGGT AGTGCCAAGA

Avi tag

5101 GGCCTGAACG ATATTTTTGA AGCGCAGAAA ATTGAATGGC ATGAAGGCGG  
CCGGACTTGC TATAAAAAC TCGCGTCTTT TAACTTACCG TACTTCCGCC

SacI SalI HindIII NotI XhoI His tag

5151 CGGATCCGAA TTCGAGCTCC GTCGACAAGC TTGCGGCCGC ACTCGAGCAC  
GCCTAGGCTT AAGCTCGAGG CAGCTGTTTCG AACGCCGGCG TGAGCTCGTG

5201 CACCACCACC ACCACTGAGA TCCGGCTGCT AACAAAGCCC GAAAGGAAGC  
GTGGTGGTGG TGGTGACTCT AGGCCGACGA TTGTTTCGGG CTTTCCTTCG

➤ pET-N-His-Avi中没有的酶切位点包括:

AarI	AatI	AatII	AbsI	Acc36I	Acc65I	Acc113I
AcvI	AflII	AgeI	AhdI	AhlI	AjiI	AleI
AscI	AsiGI	Asp718I	AspA2I	AspEI	AsuII	AsuNHI
AvrII	AxyI	BaeI	BalI	BbrPI	BbvCI	BcuI
BfrI	BfuAI	BlnI	BmcAI	BmeRI	BmgBI	BmtI
BplI	Bpu14I	BsaI	Bse21I	BseRI	BshTI	BsiWI
Bso31I	Bsp119I	Bsp1407I	BspMI	BspOI	BspTI	BspT104I
BspTNI	BsrGI	Bst98I	BstAFI	BstAUI	BstBI	BstSNI
Bsu36I	BtrI	BveI	Cfr42I	CpoI	CsiI	CspI
Csp45I	CspAI	CspCI	DraI	DriI	Eam1105I	Eco31I
Eco72I	Eco81I	Eco105I	Eco147I	FalI	FauNDI	FseI
I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI	KpnI	KspI	MabI
MauBI	MfeI	MlsI	MluNI	MreI	MscI	Msp20I
MspCI	MssI	MunI	Nb.BbvCI	NdeI	NheI	NspV
Nt.BbvCI	OliI	PacI	PalAI	PasI	PceI	Pfl123II
PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	PspCI
PspLI	PsrI	PstI	RigI	RsrII	Rsr2I	SacII
SanDI	SbfI	ScaI	SdaI	SexAI	SfiI	Sfr303I
SfuI	SgrBI	SgrDI	SgsI	SmiI	SnaBI	SpeI
SrfI	Sse8387I	SseBI	SspBI	SstII	StuI	SwaI
Vha464I	XmaJI	ZraI	ZrmI			

➤ pET-N-His-Avi中的单酶切位点包括:

AlwNI	CAG, NNN`CTG	1732	NcoI	C`CATG, G	5069
ApaI	G, GGCC`C	4039	NmeAIII	GCCGAG (N) 19, NN`	4042
AsiSI	GCG, AT`CGC	945	NotI	GC`GGCC, GC	5184
BamHI	G`GATC, C	5152	NruI	TCG CGA	1286
BclI	T`GATC, A	4228	Paer7I	C`TCGA, G	5192
BglI	GCCN, NNN`NGGC	3185	PciI	A`CATG, T	2141
BglII	A`GATC, T	4964	PflFI	GACN`N, NGTC	2399
BlpI	GC`TNA, GC	5271	PpuMI	RG`GWC, CY	3136
BspDI	AT`CG, AT	1250	PshAI	GACNN NNGTC	3401
BspQI	GCTCTTCN`NNN,	2258	PsiI	TTA TAA	370
BssHII	G`CGCG, C	3831	PspOMI	G`GGCC, C	4035
BstAPI	GCAN, NNN`NTGC	4566	PspXI	VC`TCGA, GB	5192
BstEII	G`GTNAC, C	4060	PvuI	CG, AT`CG	945
BstZ17I	GTA TAC	2374	SacI	G, AGCT`C	5168
ClaI	AT`CG, AT	1250	SalI	G`TCGA, C	5171
DraIII	CAC, NNN`GTG	245	SapI	GCTCTTCN`NNN,	2258
EagI	C`GGCC, G	5184	SgrAI	CR`CCGG, YG	4923
Eco53kI	GAG CTC	5166	SmaI	CCC GGG	1069
EcoRI	G`AATT, C	5158	SphI	G, CATG`C	4775
EcoRV	GAT ATC	3796	TspMI	C`CCGG, G	1067
FspI	TGC GCA	3164	Tth111I	GACN`N, NGTC	2399

HindIII	A`AGCT,T	5177	XbaI	T`CTAG,A	5030
HpaI	GTT AAC	3740	XhoI	C`TCGA,G	5192
MluI	A`CGCG,T	4242	XmaI	C`CCGG,G	1067

- pET-N-His-Avi质粒中推荐使用的测序引物序列如下：  
T7-R (4984-5003): 5'-CCCTATAGTGAGTCGTATTA-3'
- pET-N-His-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
D3002-1μg	pET-N-His-Avi	1μg
D3002-100μg	pET-N-His-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：

- 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。
- 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。

#### 参考文献：

- Millard G.Cull, Peter J.Schatz. Methods in Enzymology. 2000. Volume 326:430-440.

#### 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