



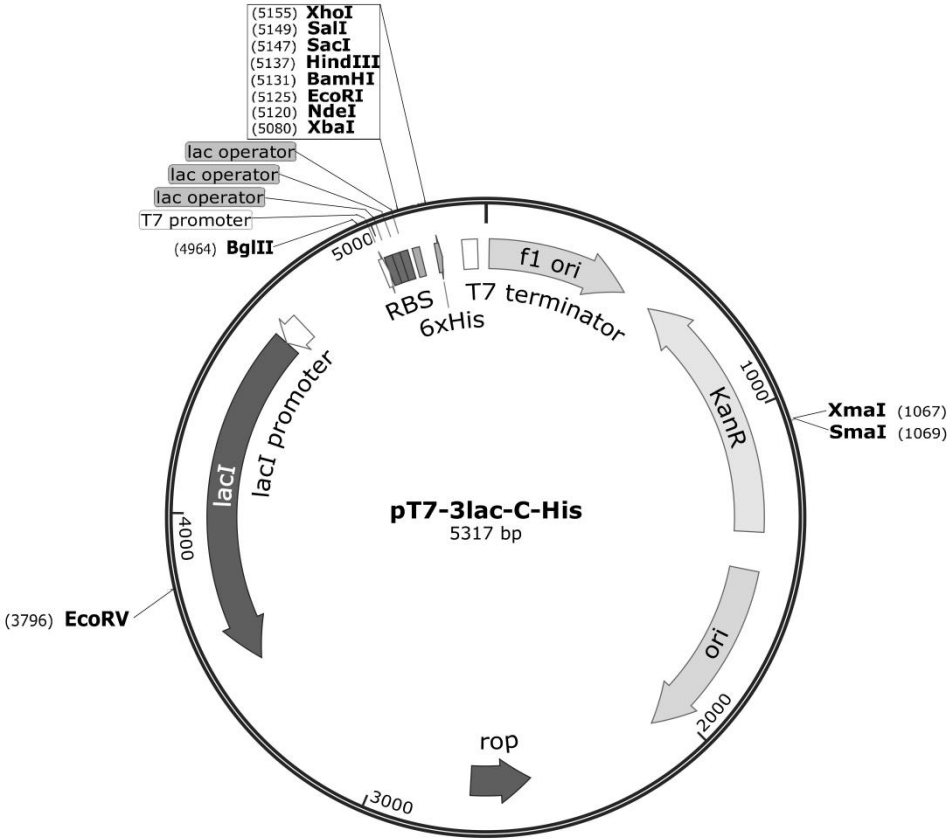
碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

pT7-3lac-C-His (毒性蛋白原核表达质粒)

产品编号	产品名称	包装
D5015-1μg	pT7-3lac-C-His (毒性蛋白原核表达质粒)	1μg
D5015-100μg	pT7-3lac-C-His (毒性蛋白原核表达质粒)	100μg

产品简介：

- pT7-3lac-C-His (毒性蛋白原核表达质粒)是碧云天自行研发的一种适用于严谨控制目的蛋白本底性表达C端含有His标签(His-tag)的对于细菌有毒性的目的蛋白的原核表达质粒。本质粒含有T7启动子，在RBS位点的前面插入了3个乳糖操纵子lac；本质粒表达的lac阻遏物lacI可以结合在3个乳糖操纵子上强力抑制T7启动子的转录起始，从而抑制毒性蛋白在没有诱导情况下的背景表达对细菌生长的影响[1]。在异丙基-β-D-硫代半乳糖苷(Isopropyl-β-D-1-thiogalactopyranoside, IPTG)的诱导下，则可以高效启动目的蛋白表达，尤其是毒性蛋白的高效表达。在多克隆位点的后面有一个His标签的编码序列，该His标签编码6个组氨酸(6X His)。在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C端带有His标签的目的蛋白。当然用户也可以在多克隆位点插入N端带其它标签的蛋白，然后在蛋白的C端插入终止密码子。
- 本质粒为卡那霉素(Kanamycin)，可利用其卡那霉素抗性，转化大肠杆菌后筛选阳性克隆。
- 通常可以采用如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)或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)等纯化本质粒表达的目的蛋白融合蛋白，也可以使用His-tag抗体(AH367)检测或少量分离纯化目的蛋白。
- pT7-3lac-C-His质粒(5317bp)的图谱如下：



- pT7-3lac-C-His质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
f1 ori		12-467
Kanamycin resistance ORF		560-1375
ori		1497-2085
rop gene		2515-2706

lacI	3515-4597
lacI promoter	4598-4675
T7 promoter	4984-5002
lac operator	5003-5027
lac operator	5028-5052
lac operator	5053-5077
RBS	5092-5114
His tag	5161-5178
T7 terminator	5245-5292

➤ pT7-3lac-C-His的多克隆位点的详细图谱如下:

	T7 promoter	lac operator1	lac
4984	TAATACGACT CACTATAGG	G GAATTGTGAG CGGATAACAA TTCC	GGAATT
	ATTATGCTGA GTGATATCCC	CTTAACACTC GCCTATTGTT AAGG	CCTTAA
	Operator2	lac operator3	XbaI
5034	GTGAGCGGAT AACAATTCC	G GAATTGTGAG CGGATAACAA TTCC	CCTCTA
	CACTCGCCTA TTGTTAAGG	C CTTAACACTC GCCTATTGTT AAGG	GGAGAT
	RBS	NdeI	EcoRI BamHI
5084	GAAATAATTT TGTTTAACTT	TAAGAAGGAG ATATACATAT	GGAATTCGGA
	CTTTATTAAA ACAAATTGAA	ATTCTTCCTC TATATGTATA	CCTTAAGCCT
	SacI		
	HindIII	SalI	XhoI His tag
5134	TCCAAGCTTG AGCTCGTCGA	CCTCGAGCAC CACCACCACC	ACCACTGAGA
	AGGTTTGAAC TCGAGCAGCT	GGAGCTCGTG GTGGTGGTGG	TGGTGACTCT

➤ pT7-3lac-C-His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	BseX3I	BshTI
BsiWI	Bso31I	Bsp19I	Bsp119I	Bsp1407I	BspMI	BspOI
BspTI	BspT104I	BspTNI	BsrGI	Bst98I	BstAFI	BstAUI
BstBI	BstSNI	BstZI	Bsu36I	BtrI	BveI	CciNI
Cfr42I	CpoI	CsiI	CspI	Csp45I	CspAI	CspCI
DraI	DriI	EagI	Eam1105I	EclXI	Eco31I	Eco52I
Eco72I	Eco81I	Eco105I	Eco147I	FalI	FseI	I-CeuI
I-PpoI	I-SceI	KflI	KpnI	KspI	MabI	MauBI
MfeI	MlsI	MluNI	MreI	MscI	Msp20I	MspCI
MssI	MunI	Nb.BbvCI	NcoI	NheI	NotI	NspV
Nt.BbvCI	OliI	PacI	PalAI	PasI	PceI	Pfl23II
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			

➤ pT7-3lac-C-His中的单酶切位点包括:

AcuI	AlwNI	ApaI	AsiSI	BamHI	BclI	BglI
BglII	BlpI	BspDI	BspQI	BssHII	BssSI	BstAPI
BstEII	BstZ17I	ClaI	DraIII	Eco53kI	EcoRI	EcoRV
FspI	HindIII	HpaI	MluI	NdeI	NmeAIII	NruI
Paer7I	PciI	PflFI	PpuMI	PshAI	PsiI	PspOMI
PspXI	PvuI	SacI	SalI	SapI	SgrAI	SmaI
SphI	StyI	TspMI	Tth111I	XbaI	XhoI	XmaI

➤ pT7-3lac-C-His质粒中对于插入片段进行测序时, 推荐使用的正向测序引物T7和反向测序引物T7 ter primer的序列如下:

T7 primer (4984-5002): 5'TAATACGACTCACTATAGG3'

T7 ter primer (5231-5249): 5'GCTAGTTATTGCTCAGCGG3'

➤ pT7-3lac-C-His的全序列信息请参考碧云天网站上该质粒的信息。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D5015-1μg	pT7-3lac-C-His	1μg
D5015-100μg	pT7-3lac-C-His	100μg
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃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. pT7-3lac-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进行表达纯化。

参考文献：

1. Oehler S, Eismann ER, Krämer H, Müller-Hill B. The three operators of the lac operon cooperate in repression. EMBO J. 1990 Apr;9(4):973-9.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2210	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐还原螯合型)	10ml
P2218	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐还原螯合型)	100ml
P2220	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐还原螯合型)	1000ml
P2226	His标签蛋白纯化试剂盒(耐还原螯合型)	10ml
P2233	BeyoGold™ His-tag Purification Resin (耐变性剂型)	10ml
P2229S	His标签蛋白纯化试剂盒(耐变性剂型)	10ml
AH367	His-tag抗体(小鼠单抗)	>20次

Version 2023.04.28