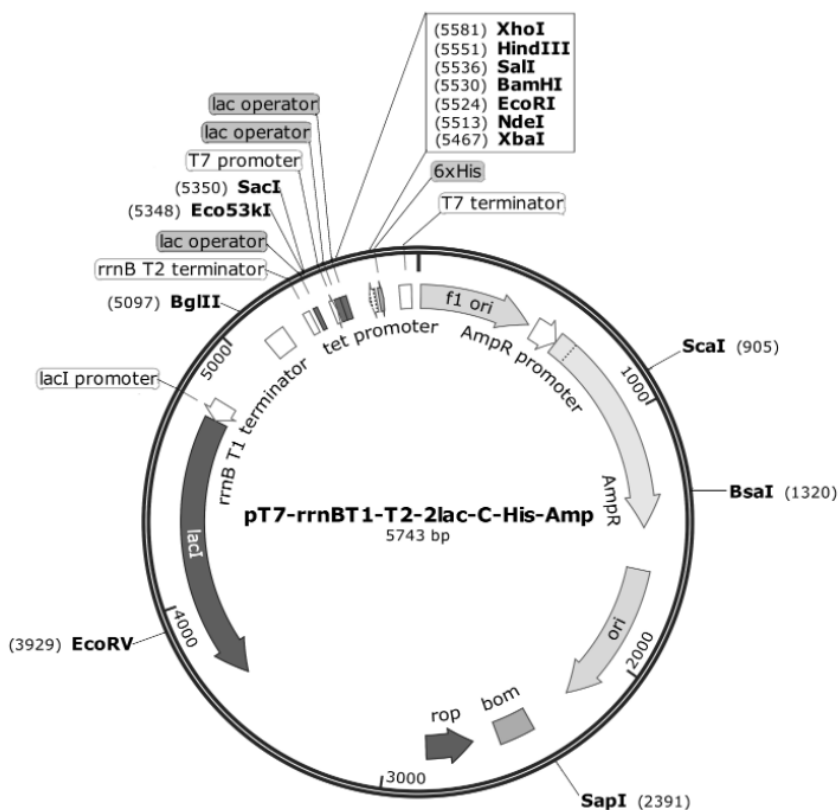


pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp (毒性蛋白原核表达质粒)

产品编号	产品名称	包装
D5017-1μg	pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp (毒性蛋白原核表达质粒)	1μg
D5017-100μg	pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp (毒性蛋白原核表达质粒)	100μg

产品简介:

- pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp是碧云天研发的一种用于非常严谨地控制目的蛋白本底性表达的C端含有His标签(His-tag)的目的蛋白的氨苄青霉素抗性原核表达质粒。本质粒含有T7启动子, 在T7启动子的前面插入了1个rrnB T1 terminator、1个rrnB T2 terminator和1个乳糖操纵子lac, 在T7启动子的后面插入了2个乳糖操纵子lac; 本质粒中的rrnB T1 terminator和rrnB T2 terminator通过形成RNA依赖的发夹(hairpin)结构防止相关克隆基因在大肠杆菌的本底表达, 特别适合一些对大肠杆菌有毒性的基因的克隆及表达对细菌生长的影响[1,2]; 本质粒表达的lac阻遏物lacI可以结合在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; 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, 然后在目的蛋白的C端插入终止密码子。
- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin), 可利用其氨苄青霉素抗性, 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 (耐还原整合型) (P2210/P2218/P2220)/His标签蛋白纯化试剂盒(耐还原整合型) (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-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp质粒(5743bp)的图谱如下:



- pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
f1 ori		12-467

AmpR promoter	494..598
AmpR	599..1459
ori	1630..2218
bom	2404..2546
rop	2648..2839
lacI	3648..4730
lac operator	4731..4808
rrnB T1 terminator	5103..5189
rrnB T2 terminator	5281..5308
lac operator	5326..5342
T7 promoter	5393..5411
lac operator	5413..5437
lac operator	5438..5462
tet promoter	5547..5575
His tag	5587..5604
T7 terminator	5671..5718

➤ pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp的多克隆位点的详细图谱如下:

rrnB T1 terminator

5103 CAAATAAAAC GAAAGGCTCA GTCGAAAGAC TGGGCCTTTC GTTTTATCTG
GTTTATTTTG CTTTCCGAGT CAGCTTTCTG ACCCGGAAAG CAAAATAGAC

5153 TTGTTTGTCTG GTGAACGCTC TCCTGAGTAG GACAAATCCG CCGGGAGCGG
AACAAACAGC CACTTGCGAG AGGACTCATC CTGTTTAGGC GGCCCTCGCC

5203 ATTTGAACGT TGCGAAGCAA CGGCCCGGAG GGTGGCGGGC AGGACGCCCCG
TAAACTTGCA ACGCTTCGTT GCCGGGCCTC CCACCGCCCCG TCCTGCGGGC

rrnB T2 terminator

5253 CCATAAACTG CCAGGCATCA AATTAAGCAG AAGGCCATCC TGACGGATGG
GGTATTTGAC GGTCCGTAGT TTAATTGCTC TTCCGGTAGG ACTGCCTACC

lac operator1

SacI

5303 CCTTTTTGAG ATCAATTCTT AAATTGTGAG CGGATAACAA TTTGAGCTCG
GGAAAACTC TAGTTAAGAA TTTAACACTC GCCTATTGTT AACTCGAGC

T7 promoter

5353 GTACCTTTTC GCGCGCGTTT CCCTGCAGGT GGCGCGCCTG TAATACGACT
CATGGAAAAG CGCGCGCAAA GGGACGTCCA CCAGCGCGGAC ATTATGCTGA

lac operator2

lac operator3

5403 CACTATAGGG GGAATTGTGA GCGGATAACA ATTCCGGAAT TGTGAGCGGA
GTGATATCCC CCTTAACACT CGCCTATTGT TAAGGCCTTA AACTCGCCT

XbaI

5453 TAACAATTCC CCCCTCTAGA AATAATTTTG TTAAACATTT AAATCCAGAA
ATTGTTAAGG GGGGAGATCT TTATTAATAAC AAATTGTAAA TTTAGGTCTT

NdeI

EcoRI

BamHI

SacI

HindIII

5503 GGAGATATAC ATATGGCTAG CGAATTCGGA TCCGTCGACA CCGCATTAAC
CCTCTATATG TATACCGATC GCTTAAGCCT AGGCAGCTGT GGCCTAATTT

XhoI His tag

5553 GCTTATCGAT GATAAGCTGT CAAACATGCT CGAGCACCAC CACCACCACC
CGAATAGCTA CTATTCGACA GTTTGTACGA GCTCGTGGTG GTGGTGGTGG

5603 ACTGAGATCC GGCTGCTAAC AAAGCCCGAA AGGAAGCTGA GTTGGCTGCT
TGACTCTAGG CCGACGATTG TTTCGGGCTT TCCTTCGACT CAACCGACGA

T7 Terminator

5653 GCCACCGCTG AGCAATAACT AGCATAACCC CTTGGGGCCT CTAAACGGGT
CGGTGGCGAC TCGTTATTGA TCGTATTGGG GAACCCCGGA GATTTGCCCA

5703 CTTGAGGGGT TTTTGT
GAACTCCCCA AAAAAC

➤ pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp中没有的酶切位点包括:

AatI	AatII	AbsI	AcvI	AflII	AgeI	AhlI
AjiI	AjuI	AleI	AsiGI	AsiSI	AspA2I	AsuII
AvrII	AxyI	BaeI	BalI	BbrPI	BbvCI	BcuI
BfrI	BlnI	BmgBI	BplI	Bpu14I	BsaMI	Bse21I
BseRI	BseX3I	BshTI	BsiWI	BsmI	Bsp19I	Bsp68I
Bsp119I	Bsp1407I	BspTI	BspT104I	BsrGI	Bst98I	BstAFI
BstAUI	BstBI	BstSNI	BstZI	Bsu36I	BtrI	BtuMI
CciNI	Cfr9I	Cfr42I	CpoI	CsiI	CspI	Csp45I
CspAI	CspCI	EagI	EclXI	Eco52I	Eco72I	Eco81I
Eco105I	Eco147I	EcoT22I	FalI	FseI	I-CeuI	I-PpoI
I-SceI	KflI	KspI	MabI	MfeI	MlsI	MluNI
Mph1103I	MreI	MscI	Msp20I	MspCI	MssI	MunI
Mva1269I	Nb.BbvCI	Nb.BsmI	Nb.Mva1269	NcoI	NotI	NruI
NsiI	NspV	Nt.BbvCI	OliI	PacI	PasI	PceI
PctI	Pfl123II	PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI
PmlI	PspCI	PspLI	PsrI	RgaI	RigI	RruI
RsrII	Rsr2I	SacII	SanDI	SexAI	SfaAI	SfiI
Sfr303I	SfuI	SgfI	SgrBI	SgrDI	SmaI	SnaBI
SpeI	SrfI	SseBI	SspBI	SstII	StuI	TspMI
Vha464I	XmaI	XmaCI	XmaJI	ZraI	Zsp2I	

➤ pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp中的单酶切位点包括:

Acc65I	AhdI	AlwNI	ApaI	AscI	AvaI	BamHI
BclI	BfuAI	BglII	BlpI	BmtI	Bpu10I	BsaI
BsoBI	BspDI	BspMI	BspQI	BstAPI	BstEII	BstZ17I
ClaI	DraIII	Eco53kI	EcoNI	EcoRI	EcoRV	HindIII
HpaI	KpnI	MluI	NdeI	NheI	PaeR7I	PaqCI
PciI	PflFI	PfIMI	PpuMI	PshAI	PsiI	PspOMI
PspXI	PvuI	SacI	SalI	SapI	SbfI	ScaI
SgrAI	SphI	StyI	SwaI	Tth111I	XbaI	XhoI

➤ pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp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:

Forward primer (5393-5411): 5'TAATACGACTCACTATAGG3'
Reverse primer (5657-5675): 5'GCTAGTTATTGCTCAGCGG3'

➤ pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp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
D5017-1μg	pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp	1μg
D5017-100μg	pT7-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp	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-rrnBT1-T2-2lac-C-His-Amp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. Sohn Y, Kang C. Sequential multiple functions of the conserved sequence in sequence-specific termination by T7 RNA polymerase. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Jan 4;102(1):75-80.
2. Hoseok, Song, Changwon, et al. Sequence-specific termination by T7 RNA polymerase requires formation of paused

conformation prior to the point of RNA release. Genes to Cells, 2001 Apr 6;(4):291-301.

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