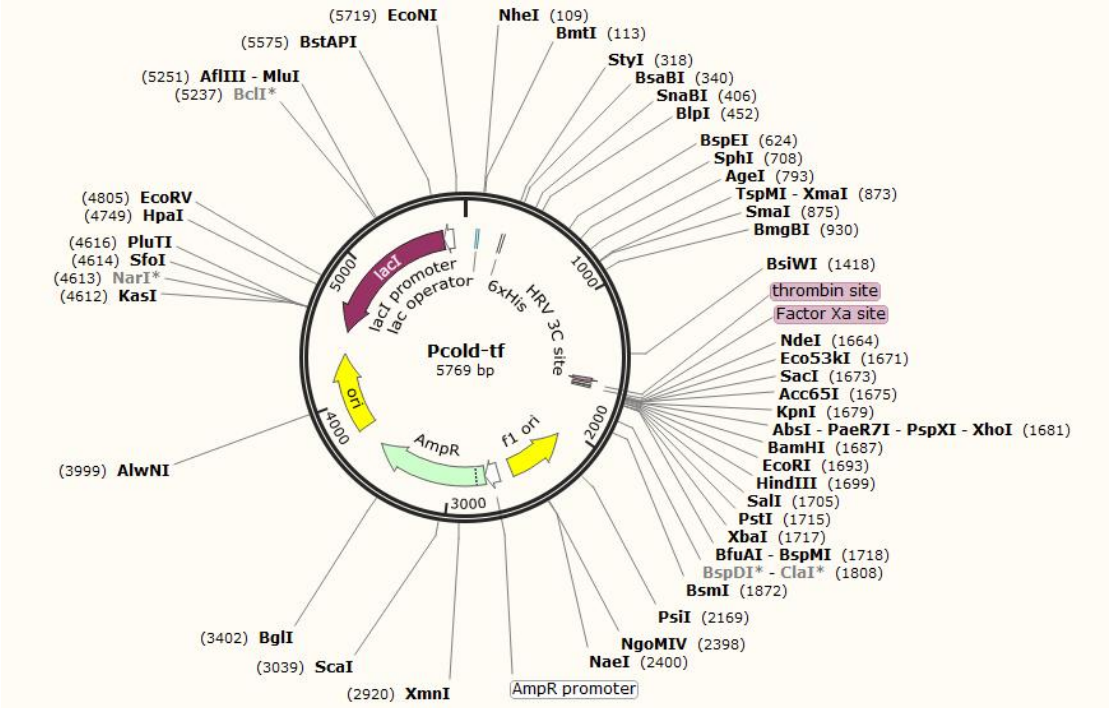
pCold-TF

基本信息

质粒类型:	大肠杆菌冷激表达载体
表达水平:	高
启动子:	CSPA
克隆方法:	多克隆位点，限制性内切酶
载体大小:	5769 bp
5' 测序引物及序列:	pCold-TF-F1: 5'-CCACTTTCAACGAGCTGATG-3'; pCold-TF-F2: 5'-GCGAAAGTGACTGAAAAAG-3'
3' 测序引物及序列:	pCold-R: 5'-GGCAGGGATCTTAGATTCTG-3'
载体标签:	N-His, N-Trigger factor, N-HRV 3C, N-Thrombin, N-Factor Xa
载体抗性:	Ampicillin (氨苄青霉素)
备注:	温度诱导，冷休克蛋白表达载体

质粒图谱



载体简介

Takara 的 pCold TF 载体是一种融合表达可溶性的标签"触发因子（Trigger Factor,TF）伴侣"的冷休克载体。"触发因子"（48KD）是原核核糖体相关的分子伴侣蛋白（48 kDa），有利于新表达的多肽的共翻译折叠。正因为它来源于大肠杆菌，保证了触发因子能够在大肠杆菌表达系统中高表达。 pCold TF 载体由 CSPA 启动子及其下游的序列组成，其下游序列主要包括包括 5'非翻译区（5'非编码区），翻译增强元件（TEE），His 标签序列，多克隆位点（MCS）。Lac 操纵子插入在 CSPA 启动子下游，以确保严格的表达调控。此外，HRV 3C 蛋白酶，凝血酶，和 Factor Xa 识别位点位于“Trigger Factor”和多克隆位点（MCS）之间，以便表达的融合蛋白上将标签去除。 大多数大肠杆菌菌株都可以可以作为本载体的表达宿主。pCold TF 载体提供冷休克诱导的方法高水平表达目的蛋白，再加上触发因子（伴侣）的表达来提高正确的蛋白质折叠，从而实现高效可溶性表达其他系统中难以对付的蛋白。

载体序列

AAGGAATGGTGTGGCCGATTAATCATAAATATGAAAAATAATTGTTGCATCACCCGCCA
ATGCGTGGCTT
AATGCACATCAAATTGTGAGCGGATAACAATTTGATGTGCTAGCGCATATCCAGTGTAG
TAAGGCAAGTC
CCTTCAAGAGTTATCGTTGATACCCCTCGTAGTGCACATTCCTTTAACGCTTCAAAATCT
GTAAAGCACG
CCATATCGCCGAAAGGCACACTTAATTATTAAGAGGTAATACACCATGAATCACAAAGT
GCATCATCATC
ATCATCACATGCAAGTTTCAGTTGAAACCACTCAAGGCCTTGGCCGCCGTGTAACGATT
ACTATCGCTGC
TGACAGCATCGAGACCGCTGTTAAAAGCGAGCTGGTCAACGTTGCGAAAAAAGTACG
TATTGACGGCTTC
CGCAAGGGCAAAGTGCCAATGAATATCGTTGCTCAGCGTTATGGCGCGTCTGTACGCC
AGGACGTTCTGG
GTGACCTGATGAGCCGTAACTTCATTGACGCCATCATTAAAGAAAAAATCAATCCGGCT
GGCGCACCGAC
TTATGTTCCGGGCGAATACAAGCTGGGTGAAGACTTCACTTACTCTGTAGAGTTTGAAG
TTTATCCGGAA
GTTGAACTGCAAGGTCTGGAAGCGATCGAAGTTGAAAAACCGATCGTTGAAGTGACC
GACGCTGACGTTG
ACGGCATGCTGGATACTCTGCGTAAACAGCAGGCGACCTGGAAAGAAAAAGACGGCG
CTGTTGAAGCAGA
AGACCGCGTGACCATCGACTTCACCGGTTCTGTAGACGGCGAAGAGTTCGAAGGCGG
TAAAGCGTCTGAT
TTCGTACTGGCGATGGGCCAGGGTCGTATGATCCCGGGCTTTGAAGACGGTATCAAAG
GCCACAAAGCTG
GCGAAGAGTTCACCATCGACGTGACCTTCCCGGAAGAATACCACGCAGAAAACCTGA
AAGGTAAAGCAGC
GAAATTCGCTATCAACCTGAAGAAAGTTGAAGAGCGTGAACTGCCGGAACTGACCGC
AGAGTTCATCAAA

CGTTTCGGCGTTGAAGATGGTTCCGTAGAAGGTCTGCGCGCTGAAGTGCGTAAAAACA
TGGAGCGCGAGC
TGAAGAGCGCCATCCGTAACCGCGTTAAGTCTCAGGCGATCGAAGGTCTGGTAAAAGC
TAACGACATCGA
CGTACCGGCTGCGCTGATCGACAGCGAAATCGACGTTCTGCGTCGCCAGGCTGCACAG
CGTTTCGGTGGC
AACGAAAAACAAGCTCTGGAACTGCCGCGCGAACTGTTCGAAGAACAGGCTAAACGC
CGCGTAGTTGTTG
GCCTGCTGCTGGGCGAAGTTATCCGCACCAACGAGCTGAAAGCTGACGAAGAGCGCG
TGAAAGGCCTGAT
CGAAGAGATGGCTTCTGCGTACGAAGATCCGAAAGAAGTTATCGAGTTCTACAGCAAA
AACAAAGAACTG
ATGGACAACATGCGCAATGTTGCTCTGGAAGAACAGGCTGTTGAAGCTGTACTGGCGA
AAGCGAAAGTGA
CTGAAAAAGAAACCACTTTCAACGAGCTGATGAACCAGCAGGCGTCCGCGGGTCTGG
AAGTTCTGTTCCA
GGGGCCCTCCGCGGGTCTGGTGCCACGCGGTAGTGGTGGTATCGAAGGTAGGCATATG
GAGCTCGGTACC
CTCGAGGGATCCGAATTCAAGCTTGTCGACCTGCAGTCTAGATAGGTAATCTCTGCTTA
AAAGCACAGAA
TCTAAGATCCCTGCCATTTGGCGGGGATTTTTTTATTTGTTTTCAGGAAATAAATAATCG
ATCGCGTAAT
AAAATCTATTATTATTTTTGTGAAGAATAAATTTGGGTGCAATGAGAATGCGCAGGCCCT
TTCGTCTCGC
GCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCAC
AGCTTGTCTGTAA
GCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTTGGCGGGTGT
CGGGGCTGGCTTA
ACTATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCATAAAATTGTAAACGTTAAT
ATTTTGTTAAA
ATTCGCGTTAAATTTTTGTTAAATCAGCTCATTTTTTAACCAATAGGCCGAAATCGGCAA
AATCCCTTAT
AAATCAAAAGAATAGCCCGAGATAGGGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGAACAAGAGTC
CACTATTAAAGA
ACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTAC
GTGAACCATCACC
CAAATCAAGTTTTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCCTAAAGGG
AGCCCCCGATTT
AGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGA
AAGGAGCGGGCGCTA
GGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCACCACACCCGCCGCGCTTAA
TGCGCCGCTACA
GGGCGCGTACTATGGTTGCTTTGACGTATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAG
GAGAAAATACC

GCATCAGGCGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTAT
TTTTCTAAATA
CATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGA
AAAAGGAAGA
GTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCC
TGTTTTTGC
TCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGT
GGGTTACATCGAA
CTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAA
TGATGAGCACTT
TTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTC
GGTCGCCGCAT
ACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACG
GATGGCATGACA
GTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACT
TCTGACAACGA
TCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCG
CCTTGATCGTTG
GGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGT
AGCAATGGCAACA
ACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT
AGACTGGATGG
AGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTAT
TGCTGATAAATC
TGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAG
CCCTCCCGTATC
GTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCG
CTGAGATAGGTG
CCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTG
ATTTAAAACT
TCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAAT
CCCTTAACGT
GAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAG
ATCCTTTTTTTC
TGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTT
GCCGGATCAAGA
GCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACT
GTTCTTCTAGTG
TAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCT
GCTAATCCTGT
TACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACG
ATAGTTACCGGA
TAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCG
AACGACCTACACC

GAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGA
AAGGCGGACAGGT
ATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGA
AACGCCTGGTATCT
TTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTC
AGGGGGGCGG
AGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGC
CTTTTGCTCACA
TAGTCATGCCCCGCGCCCACCGGAAGGAGCTGACTGGGTTGAAGGCTCTCAAGGGCAT
CGGTCGAGATCC
CGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTTACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCC
AGTCGGGAAAC
CTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGTA
TTGGGCGCCAGG
GTGGTTTTTCTTTTCACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTCACCGCCTGGC
CCTGAGAGAGTT
GCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGCCCCAGCAGGCGAAAATCCTGTTTGATGGTGGT
TAACGGCGGGAT
ATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGTATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGC
GCAGCCCGGAC
TCGGTAATGGCGCGCATTGCGCCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAG
TGGGAACGATGC
CCTCATTCAGCATTTGCATGGTTTGTTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCCTTCC
CGTTCCGCTAT
CGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGACGCAGACGCGCC
GAGACAGAACTT
AATGGGCCCGCTAACAGCGCGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGC
CCAGTCGCGTAC
CGTCTTCATGGGAGAAAATAATACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAAT
AACGCCGGAAC
ATTAGTGCAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGA
TCAGCCCACTG
ACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGCCGCTTCGTT
CTACCATCGACA
CCACCACGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAATCGCCGCGACAATTTGCGA
CGGCGCGTGCAG
GGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTTGTTG
TGCCACGCGGTTG
GGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGCGTTTTCGCAGAAAC
GTGGCTGGCCT
GGTTCACCACGCGGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTA
TAACGTTACTGG
TTTCACATTCACCACCCTGAATTGACTCTCTTCCGGGCGCTATCATGCCATACCGCGAA
AGGTTTTGCGC

CATTCGATGGTGTCCGGGATCTCGACGCTCTCCCTTATGCGACTCCTGCATTAGGAAGC
AGCCCAGTAGT
AGGTTGAGGCCGTTGAGCACCGCCGCCGC