

# 实验室常用载体介绍

# 载体构建的根本原理

## 1. TA克隆 (T4连接酶)

Promega 的T-easy载体 (pGEM -T Easy )

TAKRA T载体(pMD18-T )

## 2. TOPO

TA克隆(pCR8/GW/TOPO)

定向克隆(pENTR)

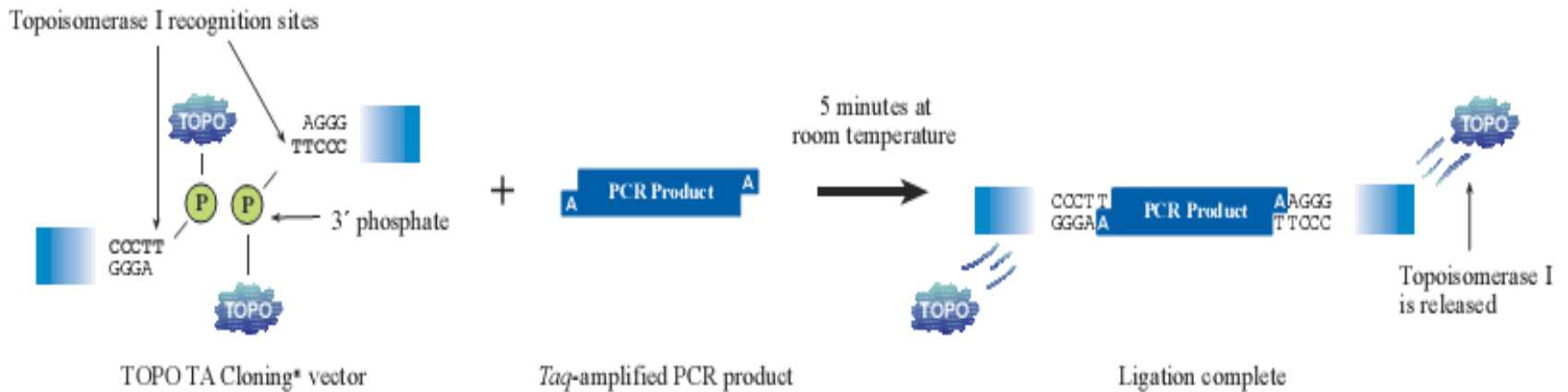
## 3. 酶切连接

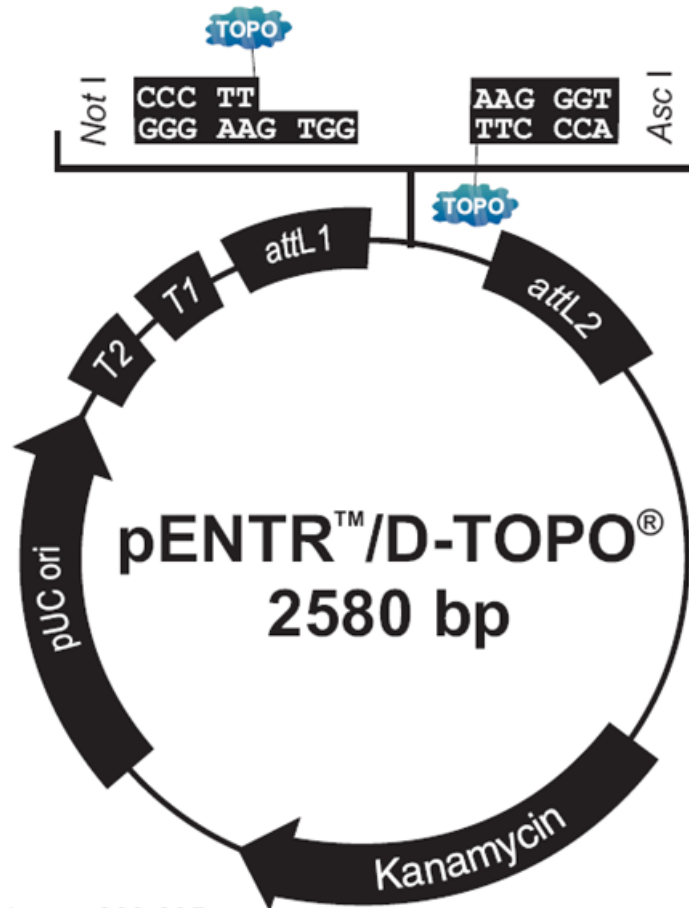
实验室常用

## 4. Gateway 技术

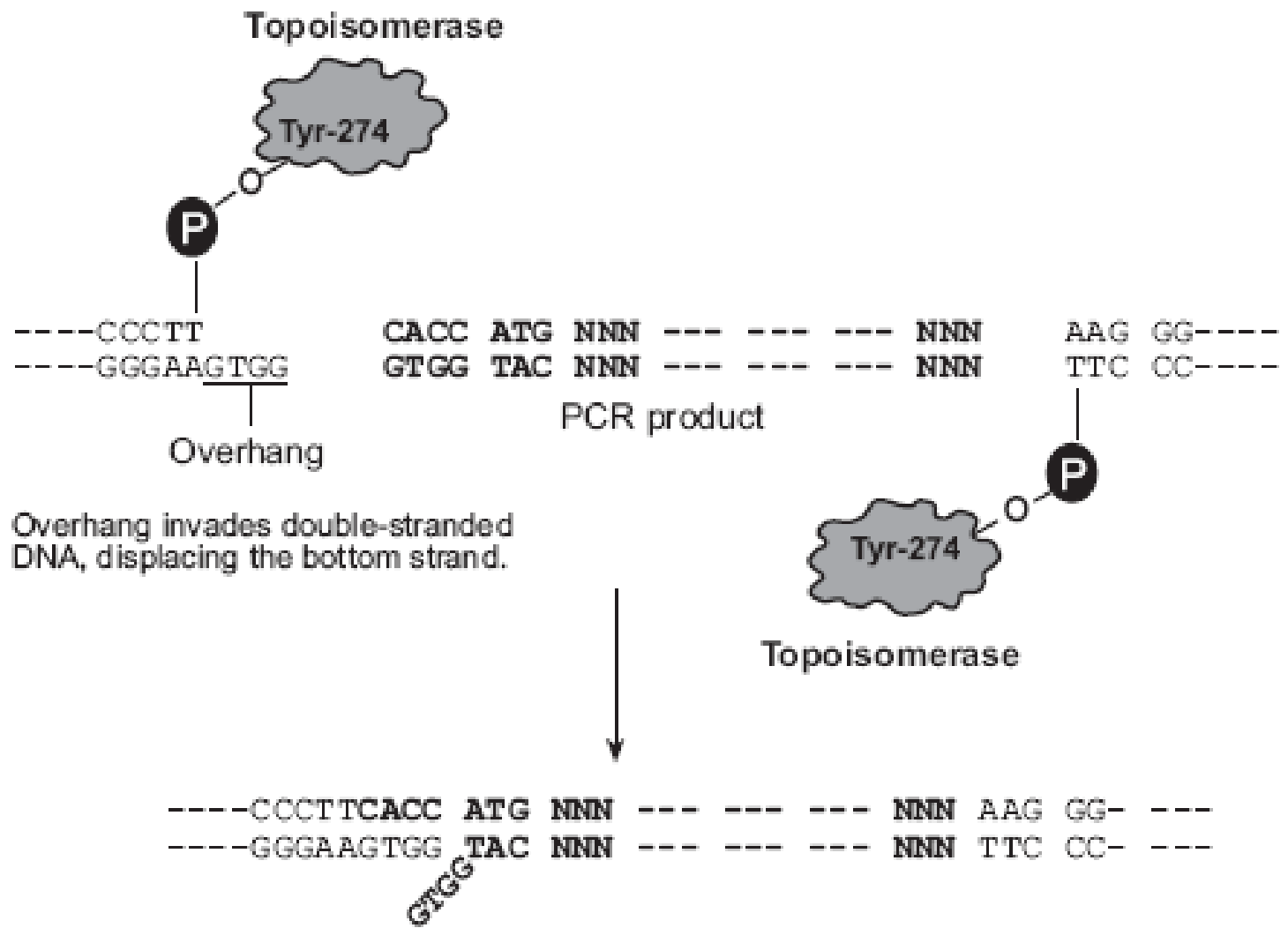
# TOPO异构酶

Figure 1 - TOPO TA Cloning\* of *Taq*-amplified DNA





ice: bases 268-295



# Gateway® 技术

- Gateway® 技术基于清楚了解的 $\lambda$ 噬菌体位点特异重组系统( $\text{attB}+\text{attP}$  ;  $\text{attL}+\text{attR}$ )。BP反响是DNA片段或者包含 $\text{attB}$ 位点的表达克隆与包含 $\text{attP}$ 位点的供载体〔donor vector〕之间进行的反响。BP反响产生入门克隆。
- LR反响是含 $\text{attL}$ 位点的入门克隆和包含 $\text{attR}$ 位点的目的载体之间的重组反响。LR反响产生表达克隆。表达克隆包含目的基因和目的载体特异的启动子或者一些元件。

1. 创立入门克隆，通过PCR或传统的克隆方法将目的基因克隆入门载体。



2. 混合包含目的基因的入门克隆和适宜的目的载体及Gateway™ LR Clonase™酶，产生表达克隆。



致死基因：DB 3.1

# Gateway attB引物

*attB1*

5' - GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTNN - 3'

*attB2*

5' - GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTN - 3'

Proline rich protein like protein (PRPL)

Sense primer GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTATGAACATAAGCCCCCTGTC

Antisense primer GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTCCATAAGCACTCTCGCTAGT



# 酶切连接载体

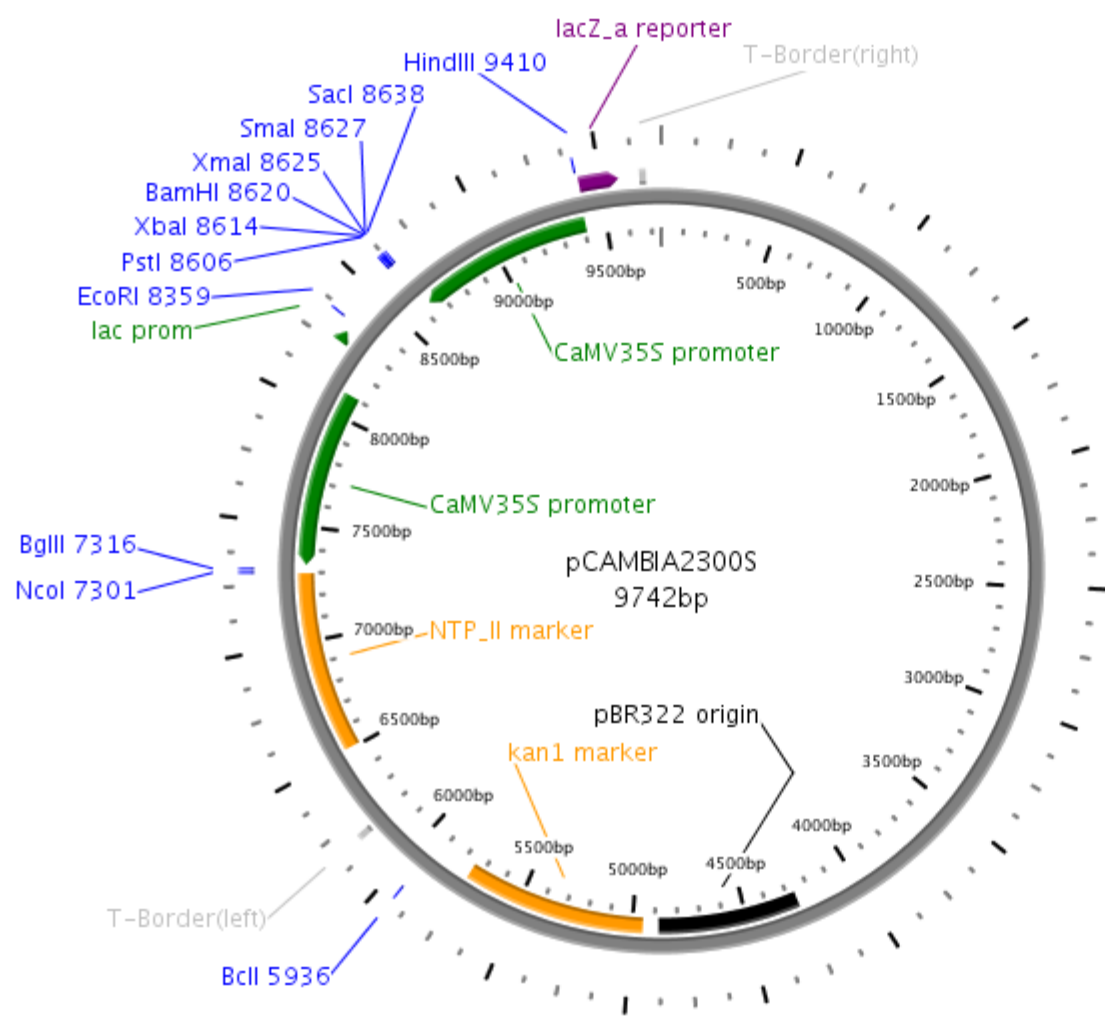
- 超表达

pCAMBIA2300S

- 启动子

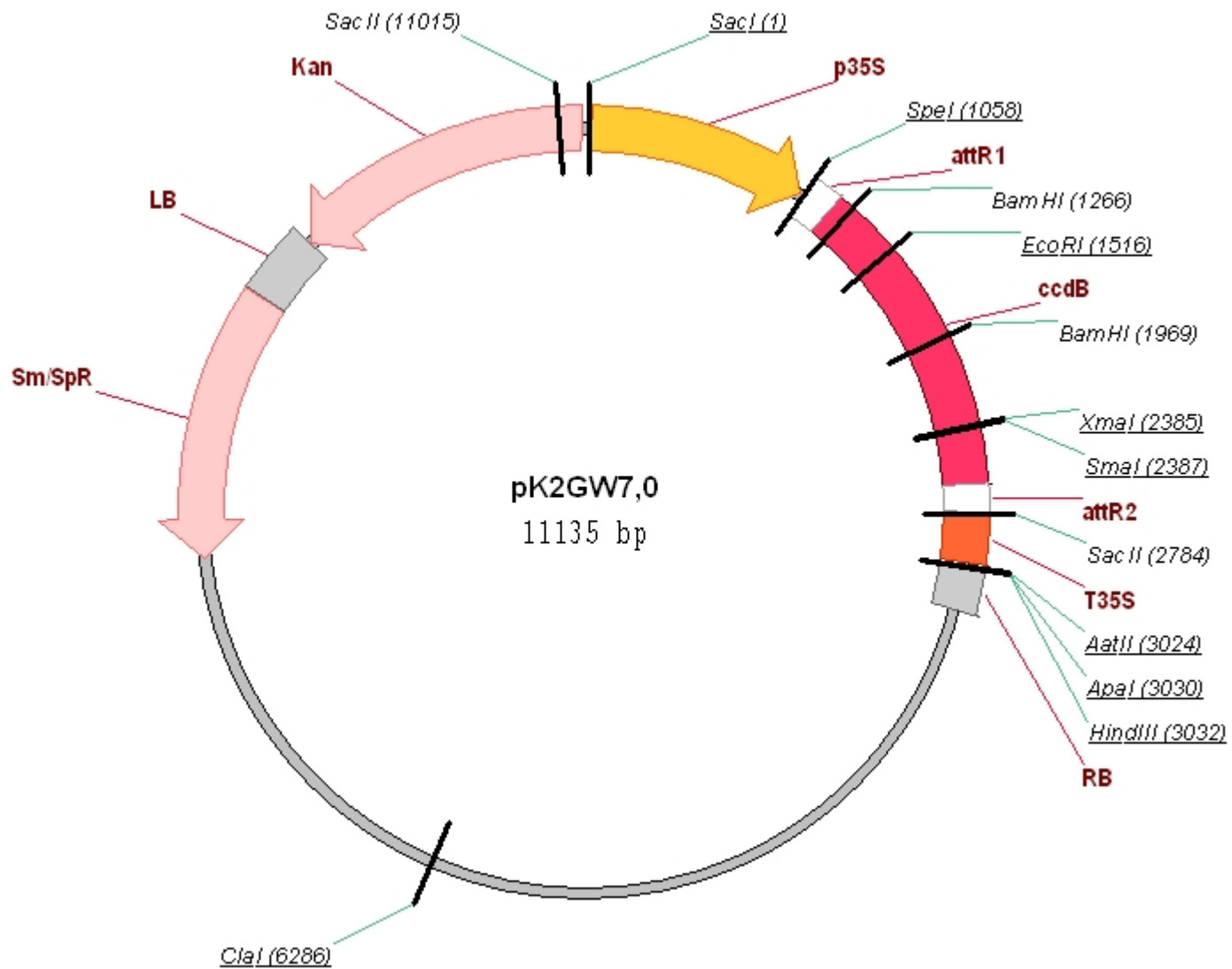
pBIN m-gfp5-ER和pBI121

- Origin of replica
- Promoter
- Reporter gene
- Selectable mark
- Tag
- Unique restriction

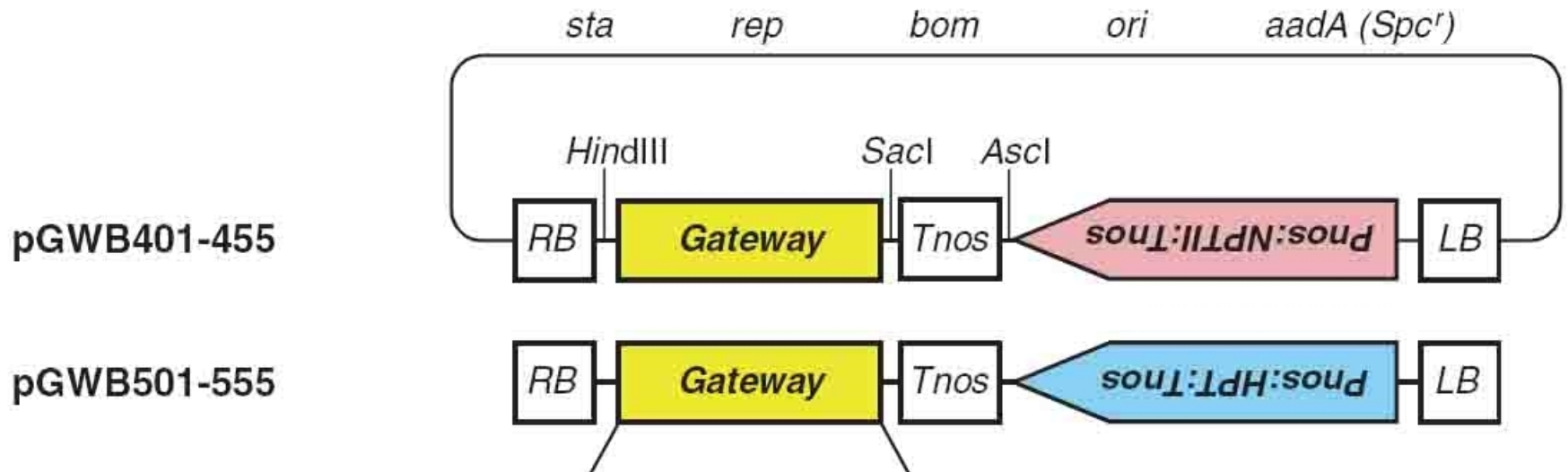


# Gateway技术载体

- 超表达



## Improved Gateway Binary Vectors for Plant Transformation



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/058053047067007002>