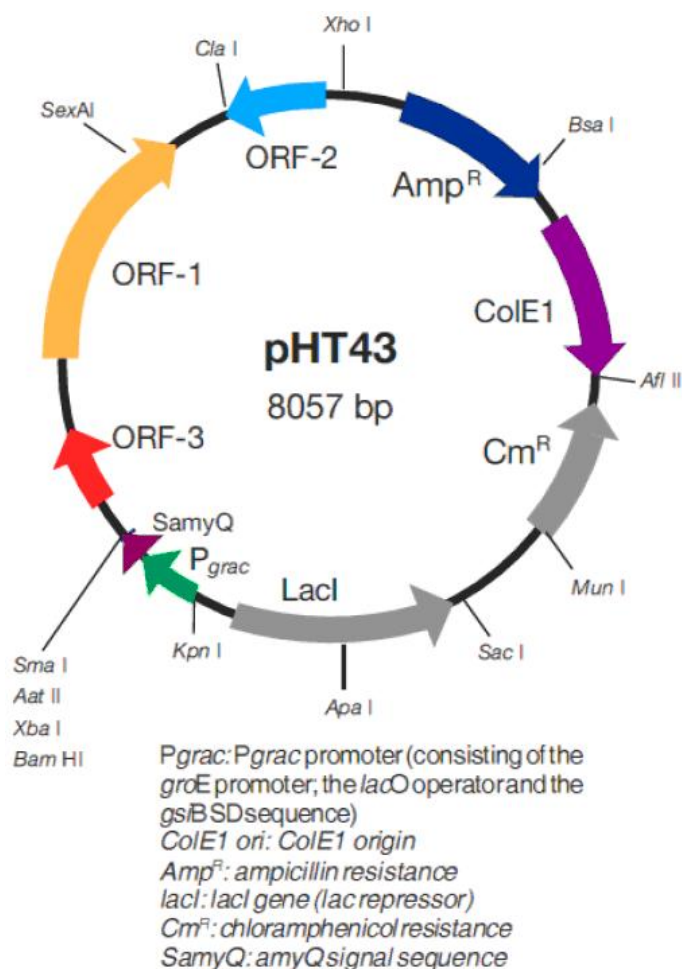


载体基本信息

平台编号: bio-82352
 载体名称: pHT43
 质粒类型: 枯草芽孢杆菌表达载体
 高拷贝/低拷贝: 高拷贝
 启动子: Pgrac
 克隆方法: 多克隆位点, 限制性内切酶
 载体大小: 8057bp
 5' 测序引物及序列: Lacl-R: GGCATACTCTGCGACATCGT
 3' 测序引物及序列: --
 载体标签: N-amyQ
 载体抗性: 氨苄和氯霉素
 筛选标记: --
 备注: pHT43 载体通过 IPTG 诱导, 能够高水平分泌表达目的蛋白。
 稳定性: 瞬时表达
 组成型: 诱导型
 病毒/非病毒: 非病毒
 载体质粒图谱和多克隆位点信息





GCGGATAACAATTcccaattaaaggaggaaggatca
lacO **RBS**

atgattcaaaaacgaaagcggacagtttcggttcagacttgtgcttatg

M I Q K R K R T V S F R L V L M

tgcacgctgttatttgtcagtttgccgattacaaaaacatcagccg

C T L L F V S L P I T K T S A

taggatcctctagagtcgacgtccccggggcagecc

BamHI **XbaI** **AatII** **SmaI**

载体简介

1.简介

革兰氏阳性菌因其在农业，医疗和食品生物技术和重组蛋白生产等方面的贡献而广为人知。在所有革兰氏阳性菌中，枯草芽孢杆菌载体因下列原因尤为引人瞩目。（一）无致病性，且一般认为安全的有机体；（二）无明显的密码子偏好性；（三）可直接将功能性胞外蛋白分泌到培养基中（目前，大约 60% 的市售酶由芽孢杆菌生产）；（四）具备包含转录，翻译，蛋白质折叠、分泌机制，遗传操作和大规模发酵的大信息量机体。

但是下述两个障碍减少了枯草芽孢杆菌的使用：（一）产生一定数目的识别并降解外源蛋白的胞外蛋白酶；（二）载体质粒稳定性。第一个障碍已因蛋白酶缺失株的构建而基本解决。第二个因引入使用 θ -复制模式质粒被完全克服，如由天然质粒 pAM β 1 和 pBS72 衍生的一些质粒（Janni \grave{e} re 等，1990；Titok 等，2003）。

最近，基于大肠杆菌 - 枯草杆菌穿梭质粒 pMTLBS72 的四种不同表达载体的构建和使用展示出全面的结构稳定性，业已出版（Nguyen 等，2005）。

两个新的载体 pHT01 和 pHT43 允许在细胞质中高水平表达重组蛋白，其中 pHT43 载体引导重组蛋白到培养基。这两个载体基于强 σ A-依赖性启动子的枯草杆菌 groE 操纵子通过添加 lac 操纵子改造成为一种高效可控的（IPTG 诱导的）启动子。pHT01 衍生载体可与 8 \times His 标签（pHT08），链球菌标签（pHT9）或 C-Myc 的标签（pHT10）相结合。

2. pHT 载体

所有在枯草芽孢杆菌的 groESL 操纵子之前使强启动子与 lac 操纵子融合的载体都可通过加入 IPTG 进行诱导。尽管当未添加诱导物时表达组件的背景表达水平很低，还是成功从约 1300 种诱导因子中筛选出一种来使用 bgaB 报道基因（Phan 等，2005）。当分别将 htpG 和 pbpE 基因融合到 groE 启动子时，加入 IPTG 后，表达的重组蛋白可能分别占细胞总蛋白的 10%和



13% (Phan 等, 2005)。热纤梭菌的 amyQ α -淀粉酶和纤维素酶 A、B 的高水平表达实验证实。该载体还插入了一个高效 SD 序列以及一个多克隆位点 (BamH I, Xba I, Aat II, Sma I)。编码 α -淀粉酶的 amyQ 基因的信号肽编码区域与 pHT01 的 SD 序列融合, 构成了 pHT43, 以此获得分泌的重组蛋白。

载体序列

LOCUS	pHT43	8057 bp	DNA	circular	12-JAN-2014
SOURCE					
ORGANISM					
COMMENT	This file is created				
COMMENT	VNTAUTHORNAME	BASE COUNT	2503 a	1584 c	1703 g 2267 t
ORIGIN					
	1	ttaagttatt	ggtatgactg	gttttaagcg	caaaaaaagt tgctttttcg tacctattaa
	61	tgtatcgttt	tagaaaaccg	actgtaaaaa	gtacagtcgg cattatctca tattataaaa
	121	gccagtcatt	aggcctatct	gacaattcct	gaatagagtt cataaacaat cctgcatgat
	181	aaccatcaca	aacagaatga	tgtacctgta	aagatagcgg taaatatatt gaattacctt
	241	tattaatgaa	ttttcctgct	gtaataatgg	gtagaaggta attactatta ttattgatat
	301	ttaagttaaa	cccagtaaat	gaagtccatg	gaataataga aagagaaaa gcattttcag
	361	gtataggtgt	tttgggaaac	aatttccccg	aaccattata tttctctaca tcagaaaggt
	421	ataaatcata	aaactccttg	aagtcattct	ttacaggagt ccaaatacca gagaatgttt
	481	tagatacacc	atcaaaaatt	gtataaagtg	gctctaactt atccaataa cctaactctc
	541	cgtcgctatt	gtaaccagtt	ctaaaagctg	tatttgagtt tatcaccctt gtcactaaga
	601	aaataaatgc	agggtaaaat	ttatatcctt	cttgttttat gtttcggtat aaacactaa
	661	tatcaatttc	tgtgggtata	ctaaaagctg	tttgttgggt caaataatga ttaaataatct
	721	cttttctctt	ccaattgtct	aatcaatctt	tattaaagtt catttgatata gcctcctaaa
	781	tttttatcta	aagtgaatct	aggaggctta	cttgtctgct ttcttcatta gaatcaatcc



微生物菌种查询网

841 ttttttaaaa gtcaatatta ctgtaacata aatatatatt ttaaaaatat cccactttat
901 ccaattttcg tttgttgaac taatgggtgc tttagttgaa gaataaagac cacattaaaa
961 aatgtggtct tttgtgtttt tttaaaggat ttgagcgtag cgaaaaatcc ttttctttct
1021 tatcttgata ataagggtaa ctattgcca toggtccattc cgacagcatc gccagtcact
1081 atggcgtgct gctagcgcca ttgccattc aggctgcgca actggttggga agggcgatcg
1141 gtgcgggcct cttcgctatt acgccagctg gcgaaaggg gatgtgctgc aaggcgatta
1201 agttgggtaa cgccagggtt ttcccagtc cgacgttgta aaacgacggc cagtgaattc
1261 gagctcagc cttactcac attaatgctg ttgcgctcac tgcccgttt ccagtcggga
1321 aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt
1381 attgggccc aggggtggtt ttcttttcac cagtgcgac ggcaacagct gattgcctt
1441 caccgcctgg ccctgagaga gttgcagca gcggtccacg ctggtttgc ccagcagcg
1501 aaaatcctgt ttgatggtg ttgacggcgg gatataacat gagctgtctt cggtatcgtc
1561 gtatcccact accgagatat ccgaccaac gcgcagccc gactcggtaa tggcgcgcat
1621 tgcgcccagc gccatctgat cgttggcaac cagcatcgca gtgggaacga tgccctcatt
1681 cagcatttgc atggtttgtt gaaaaccgga catggcactc cagtgcctt cccgttccgc
1741 tatcggtga atttgattgc gagtgagata tttatgccag ccagccagac gcagacgcg
1801 cgagacagaa cttaatgggc ccgctaacag cgcgatttgc tggtgacca atgcgaccag
1861 atgctccacg ccagtcgcg taccgtcttc atgggagaaa ataatactgt tgatgggtgt
1921 ctggtcagag acatcaagaa ataacgccg aacattagt caggcagctt ccacagcaat
1981 ggcaccttgg tcatccagc gatagttaat gatcagcca ctgacgcgtt gcgcgagaag
2041 attgtgcacc gccgctttac aggcttcgac gccgcttctg tctaccatcg acaccaccac
2101 gctggcacc agttgatcgg cgcgagattt aatgcgccg acaatttgcg acggcgcgtg
2161 cagggccaga ctggaggtg caacgccaat cagcaacgac tgtttgccc ccagttgtt
2221 tgccacgcg ttgggaatgt aattcagctc cgccatcgcc gcttccactt tttcccgcgt



微生物菌种查询网

2281 tttcgcagaa acgtggctgg cctggttcac cacgcggaa acggtctgat aagagacacc
2341 ggcatactct gcgacatcgt ataacgttac tggtttcac aaaatcgtct ccctccgttt
2401 gaatatttga ttgatcgtaa ccagatgaag cactctttcc actatcccta cagtgttatg
2461 gcttgaacaa tcacgaaaca ataattgga cgtacgatct ttcagccgac tcaaacaatca
2521 aatcttaca atgtagtctt tgaaagtatt acatatgtaa gatttaaag caaccgtttt
2581 ttcggaagga aatgatgacc tcgttccac cggaattagc ttggtaccag ctattgtaac
2641 ataatcggta cgggggtgaa aaagctaacg gaaaaggag cggaaaagaa tgatgtaagc
2701 gtgaaaaatt ttttatctta tcaactgaaa ttggaaggga gattctttat tataagaatt
2761 gtggaattgt gagcggataa caattcccaa ttaaaggag aaggatcaat gattcaaaaa
2821 cgaaagcga cagtttcgtt cagacttggt cttatgtgca cgctgttatt tgtcagtttg
2881 ccgattacaa aaacatcagc cgtaggatcc tctagagtcg acgtccccg ggcagcccg
2941 ctaatgagcg ggcttttttc acgtcacgcy tccatggaga tctttgtctg caactgaaaa
3001 gtttatacct tacctggaac aaatggttga aacatacgag gctaatacgc gcttattagg
3061 aatagtcctt gtactaataa aatcaggtgg atcagttgat cagtatattt tggacgaagc
3121 tcgaaaagaa tttggagatg acttgcttaa ttccacaatt aaattaaggg aaagaataaa
3181 gcgatttgat gttcaaggaa tcacggaaga agatactcat gataaagaag ctctaaaact
3241 attcaataac cttacaatgg aattgatcga aagggtgga ggtaaatggt acgaaaatta
3301 ggggatctac ctagaaagcc acaaggcga aggtcaagct taaagaacc ttacatggat
3361 cttacagatt ctgaaagtaa agaaacaaca gaggttaaac aaacagaacc aaaaagaaaa
3421 aaagcattgt tgaaaacaat gaaagttgat gtttcaatcc ataataagat taaatcgctg
3481 cacgaaattc tggcagcatc cgaagggaat tcatattact tagaggatac tattgagaga
3541 gctattgata agatggttga gacattacct gagagccaaa aaacttttta tgaatatgaa
3601 ttaaaaaaaaa gaaccaacaa aggctgagac agactccaaa cgagtctgtt tttttaaaaa
3661 aaatattagg agcattgaa atattattaga gaattaagaa agacatggga ataaaaatat



微生物菌种查询网

3721 tttaaatacca gtaaaaatat gataagatta tttcagaata tgaagaactc tgtttgTTTT
3781 tgatgaaaaa acaaacaaaa aaaatccacc taacggaatc tcaatttaac taacagcggc
3841 caaactgaga agttaaattt gagaagggga aaaggcggat ttatacttgt atttaactat
3901 ctccatttta acatttttatt aaaccccata caagtgaaaa tcctctttta cactgttcct
3961 ttaggtgatc gcggaggggac attatgagtg aagtaaacct aaaaggaaat acagatgaat
4021 tagtgtatta tcgacagcaa accactggaa ataaaatcgc caggaagaga atcaaaaaag
4081 ggaaagaaga agtttattat gttgctgaaa cggaagagaa gatatggaca gaagagcaaa
4141 taaaaaactt ttcttttagac aaatttgga cgcataatcc ttacatagaa ggtcattata
4201 caatcttaaa taattacttc tttgattttt ggggctattt ttaggtgct gaaggaattg
4261 cgctctatgc tcacctactc cgttatgcat acggcagcaa agacttttgc tttcctagtc
4321 tacaacaat cgctaaaaaa atggacaaga ctctgttac agttagaggc tacttgaaac
4381 tgcttgaaag gtacggTTTT atttggaag taaacgtccg taataaaacc aaggataaca
4441 cagaggaatc cccgattttt aagattagac gtaaggttcc tttgctttca gaagaacttt
4501 taaatggaag ccctaataat gaaattccag atgacgagga agcacatgta aagaaggctt
4561 taaaaaagga aaaagagggt cttccaaag ttttgaaaa agagcacgat gaatttgta
4621 aaaaaatgat ggatgagtca gaacaatta atattccaga ggccttaca tatgacacaa
4681 tgtatgaaga tatactcagt aaaggagaaa ttcgaaaaga aatcaaaaa caaacaccta
4741 atcctacaac atcttttgag agtatatcaa tgacaactga agaggaaaa gtcgacagta
4801 ctttaaaaag cgaaatgcaa aatcggtgct ctaagccttc ttttgatacc tggtttaaaa
4861 aactaagat caaaattgaa aataaaaatt gtttattact tgtaccgagt gaatttgcacat
4921 ttgaatggat taagaaaaga tatttagaaa caattaaaac agtccttgaa gaagctggat
4981 atgttttcga aaaaatcgaa ctaagaaaag tgcaataaac tgctgaagta tttcagcagt
5041 ttttttttatt tagaaatagt gaaaaaata taatcaggga ggtatcaata tttaatgagt
5101 actgatttaa atttatttag actggaatta ataattaaca cgtagactaa ttaaaattta



微生物菌种查询网

5161 atgagggata aagaggatac aaaaatatta atttcaatcc ctattaaatt ttaacaaggg
5221 ggggattaaa atttaattag aggtttatcc acaagaaaag accctaataa aatTTTTact
5281 agggttataa cactgattaa tttcttaatg ggggagggat taaaatttaa tgacaaagaa
5341 aacaatcttt taagaaaagc ttttaaaaga taataataaa aagagctttg cgattaagca
5401 aaactcttta ctttttcatt gacattatca aattcatcga tttcaaattg ttgttgatc
5461 ataaagttaa ttctgTTTTg cacaaccttt tcaggaatat aaaacacatc tgaggcttGt
5521 tttataaact cagggtcgct aaagtcaatg taacgtagca tatgatattg tatagcttcc
5581 acccaagtta gcctttctgc ttcttctgaa tgtttttcat atacttccat gggtatctct
5641 aatgattttt cctcatgtag caaggatga gcaaaaagt tatggaattg atagttcctc
5701 tctttttctt caactttttt atctaaaaca aacactttaa catctgagtc aatgtaagca
5761 taagatgttt ttccagtcac aatttcaatc ccaaactctt tagacagaaa ttctggacgt
5821 aaatcttttg gtgaaagaat ttttttatgt agcaatatat ccgatacagc accttctaaa
5881 agcgttggtg aatagggcat tttacctatc tcctctcatt ttgtggaata aaaatagtca
5941 tattcgtcca tctacctatc ctattatcga acagttgaac tttttaatca aggatcagtc
6001 ctttttttca ttattcttaa actgtgctct taactttaac aactcgattt gtttttccag
6061 atctcgaggg taactagcct cgccgatccc gcaagaggcc cggcagtcag gtggcacttt
6121 tcggggaaat gtgcgcgaa ccctatttg tttatttttc taaatacatt caaatatgta
6181 tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa tattgaaaa ggaagagtat
6241 gagtattcaa catttccgtg tcgcccttat tccctttttt gcggcatttt gccttctctg
6301 ttttgctcac ccagaaacgc tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg
6361 agtgggttac atcgaactgg atctcaacag cggtaagatc cttgagagtt ttcgccccga
6421 agaacgtttt ccaatgatga gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg tattatccccg
6481 tattgacgcc gggcaagagc aactcggctc ccgcatacac tattctcaga atgacttggg
6541 tgagtactca ccagtcacag aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa gagaattatg



微生物菌种查询网

6601 cagtgtctgcc ataaccatga gtgataaacac tgcggccaac ttactttctga caacgatcgg
6661 aggaccgaag gagctaaccg cttttttgca caacatgggg gatcatgtaa ctgccttga
6721 tcgttgggaa cgggagctga atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc
6781 tgtagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaact attaactggc gaactactta ctctagcttc
6841 ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ttctgcgctc
6901 ggcccttccg gctggctggt ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg
6961 cggtatcatt gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac
7021 gacggggagt caggcaacta tggatgaacg aaatagacag atcgtgaga taggtgcctc
7081 actgattaag cattggtaac tgtcagacca agtttactca tatatacttt agattgattt
7141 aaaacttcat ttttaattta aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac
7201 caaaatccct taacgtgagt tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa
7261 aggatcttct tgagatcctt tttttctgcy cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaacc
7321 accgctacca gcggtggttt gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggt
7381 aactggcttc agcagagcgc agatacaaaa tactgtcctt ctagtgtagc cgtagttagc
7441 ccaccacttc aagaactctg tagcaccgcc tacatacctc gctctgctaa tctgttacc
7501 agtggctgct gccagtggcg ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt
7561 accggataag gcgcagcggc cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc ccagcttga
7621 gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa gcgccacgct
7681 tcccgaaggg agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc agggtcggaa caggagagcg
7741 cacgaggag cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca
7801 cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctcgtcaggg gggcggagcc tatggaaaaa
7861 cgccagcaac gcggcctttt tacggttcct ggcccttttg tggccttttg ctcacatggt
7921 ctttctgcy ttatcccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga
7981 taccgctcgc gcgagccgaa cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcgggaaga



微生物菌种查询网

8041 gcgccaata cgcattgc

//