

Tet-on 系统表达载体 介绍

如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828

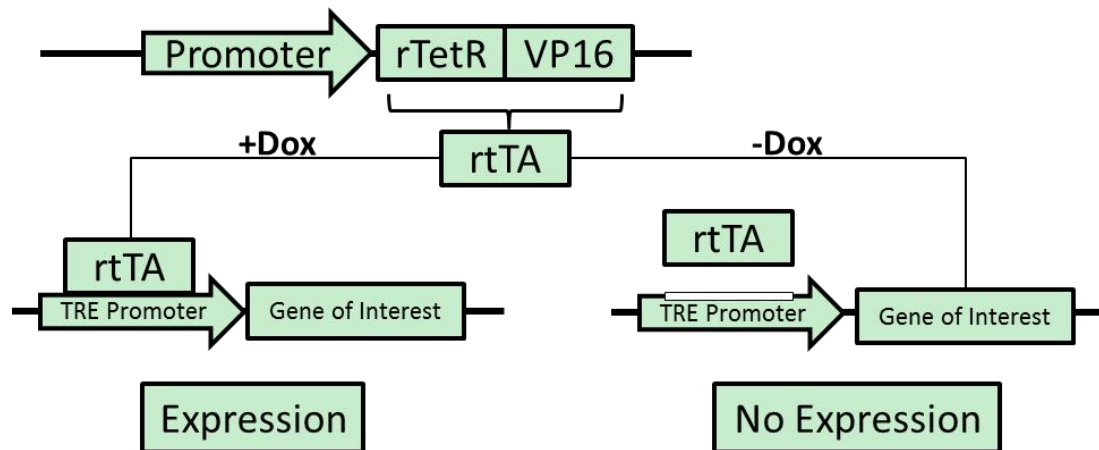
E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



Tet-on 系统表达载体介绍

诱导表达是实验过程中依据实验需求对基因表达进行有条件的实时表达调控方法。TRE-minCMV Promoter 由 Tet 应答元件 (Tet-responsive element, TRE) 和最小 CMV 启动子 (minimal CMV promoter, PminCMV) 组成, PminCMV 缺失增强子, 因此在 rtTA 未结合到 TRE 时, 下游目的基因不被表达。rtTA 是 Tet 转录活化因子, 是由 rTetR 与 VP16 的转录活化区域融合而成。当四环素或其类似物不存在时, Tet 转录活化因子 rtTA 不能与 TRE Promoter 结合, 导致目的基因不能表达; 而当四环素或其类似物存在时, rtTA 与 TRE Promoter 结合, 进而使目的基因过表达, 从而达到调控目标蛋白表达的目的。



Tet-on 诱导表达原理模式图

如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828

E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



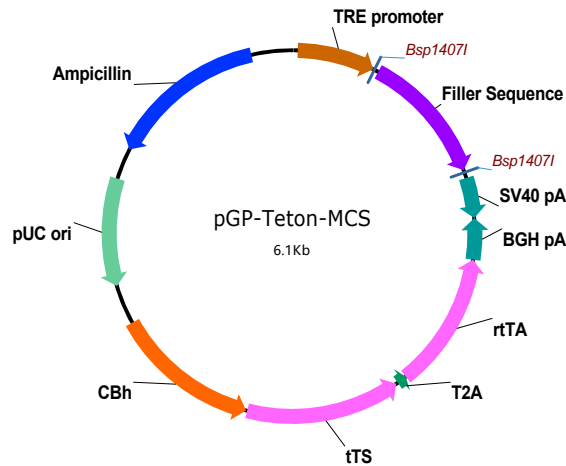
B049-V001-20210625

可以将感兴趣的基因构建到下列载体的 TRE promoter 下游，转染细胞后就可以通过外源性的给予或去除药物从而实现在时间上调控目的基因的表达。

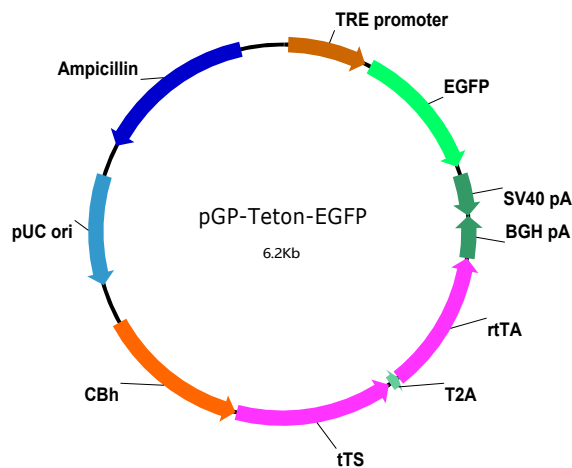
1. 常规 Tet-on 表达载体

吉玛基因可以提供普通四环素调控的过表达载体及对应的对照质粒。

(1) Tet-on 调控表达载体：



(2) Tet-on 调控对照质粒 pGP-Tet-on-EGFP:



如有疑问欢迎垂询

上海电话：021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话：0512-86668828

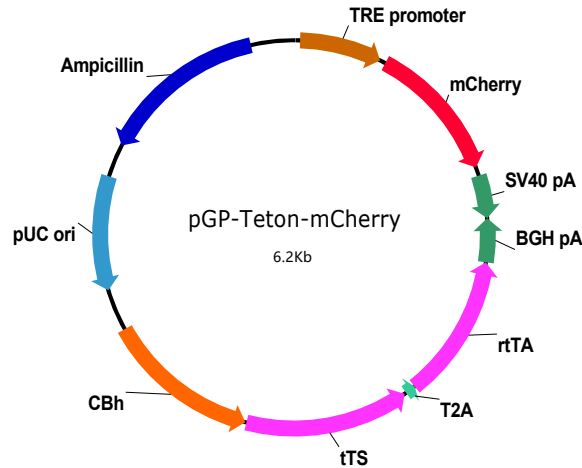
E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



B049-V001-20210625

(3) Tet-on 调控对照质粒 pGP-Tet-on-mCherry:



2. 慢病毒介导 Tet-on 载体系统

吉玛提供慢病毒介导的四环素调控的表达系统采用的是双质粒的表达，辅助质粒 pGPLV-Tet-on-Helper 提供调控需要的 rtTA 元件。病毒表达载体 pGPLV-Tet-on-MCS 用来在 TRE promoter 下游插入目的基因。分别包装病毒后，双病毒共同侵染目的细胞，在药物的作用下，实现对目的基因的可控诱导表达。

如有疑问欢迎垂询

上海电话：021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话：0512-86668828

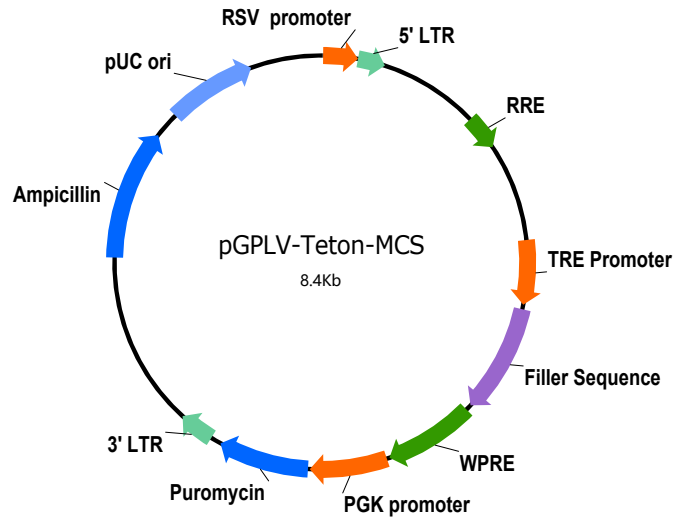
E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>

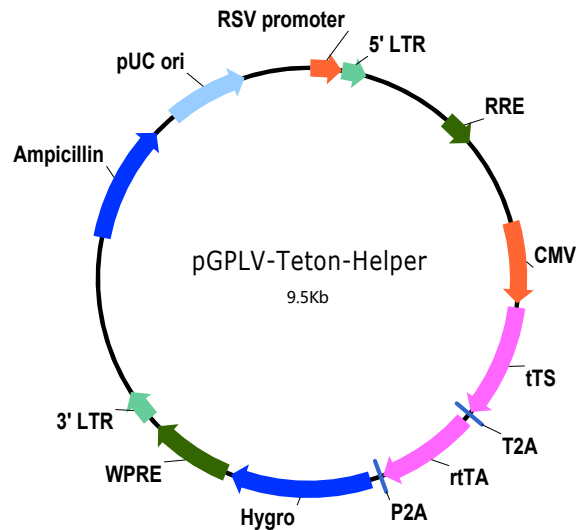


B049-V001-20210625

(1) 病毒表达载体 pGPLV-Tet-on-MCS:



(2) 辅助质粒 pGPLV-Tet-on-Helper:



如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828

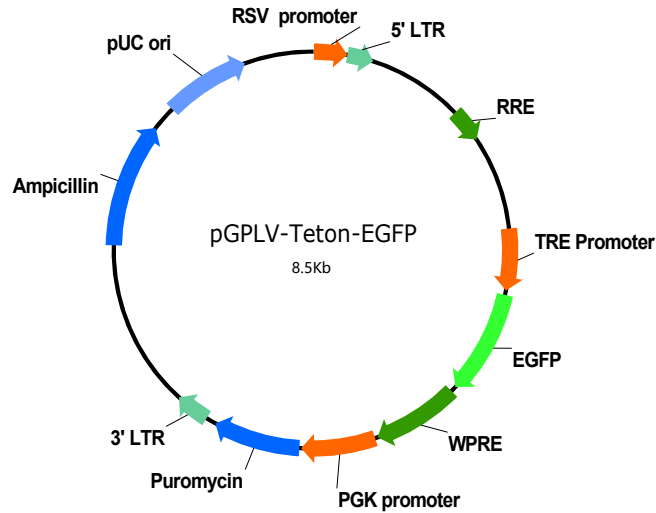
E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



B049-V001-20210625

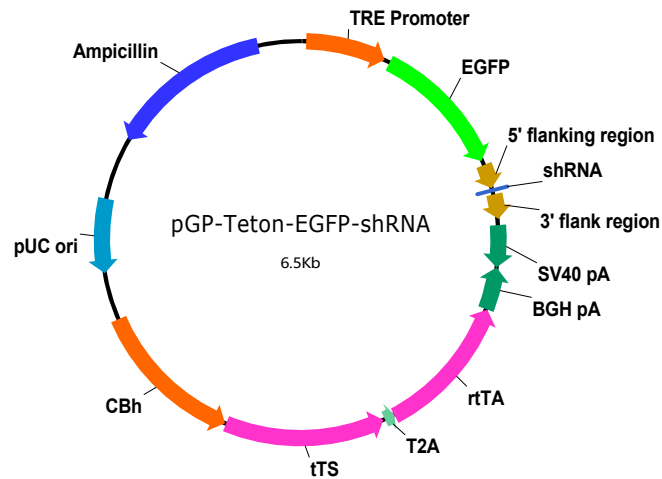
(3) 病毒对照质粒:



3. 常规 Tet-on 干扰质粒

吉玛基因还可以提供四环素调控的 shRNA 表达载体。

四环素调控的 Tet-on-shRNA 表达载体:



如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828

E-mail: szsupport@genepharma.com

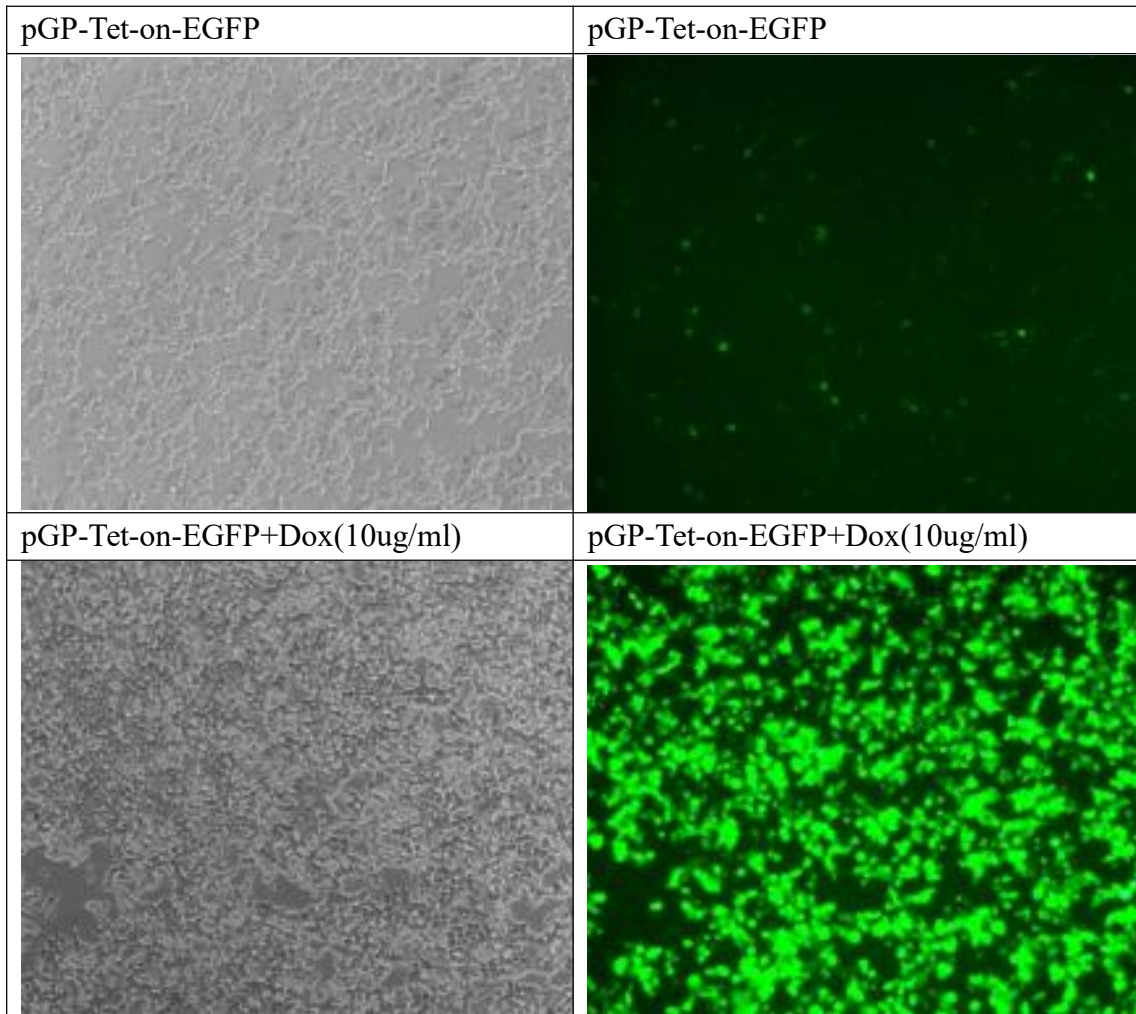
<http://www.genepharma.com>



B049-V001-20210625

4. Tet-on 诱导表达案例:

吉玛基因 Tet-on 对照载体实验结果:



如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

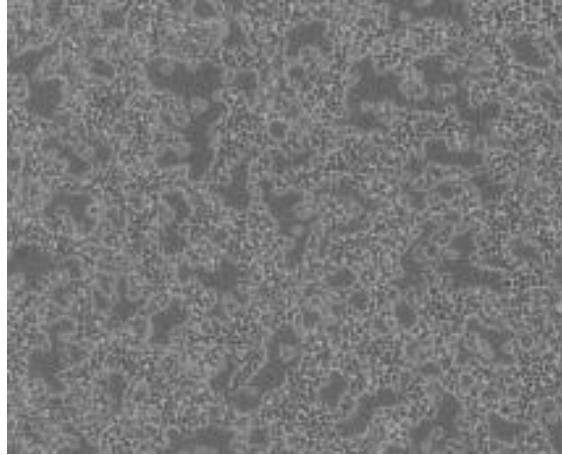
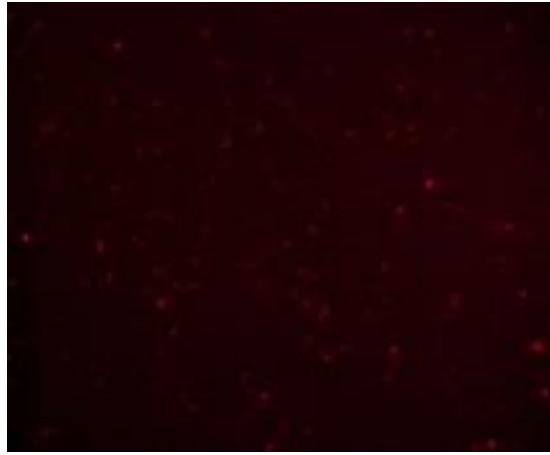
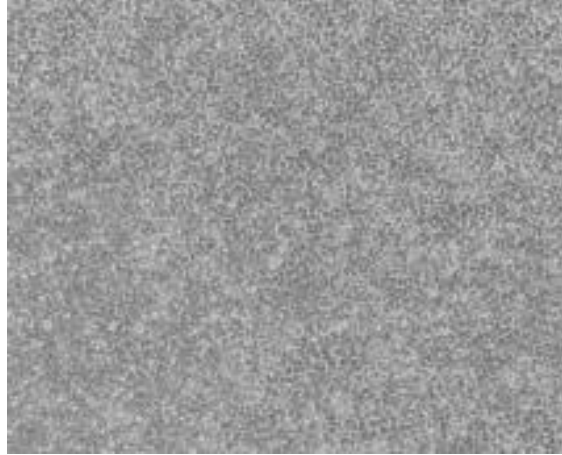
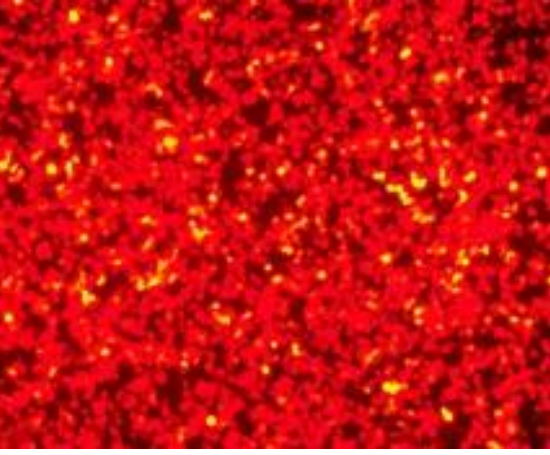
苏州电话: 0512-86668828

E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



B049-V001-20210625

pGP-Tet-on-mCherry	pGP-Tet-on-mCherry
	
pGP-Tet-on-mCherry+Dox(10ug/m)	pGP-Tet-on-mCherry+Dox(10ug/m)
	

如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828





E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



B049-V001-20210625

慢病毒对照实验

pGPLV-Tet-on-Helper	pGPLV-Tet-on-Helper+Dox(10ug/ml)
	
pGPLV-Tet-on-EGFP	pGPLV-Tet-on-EGFP+Dox(10ug/ml)
	

如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

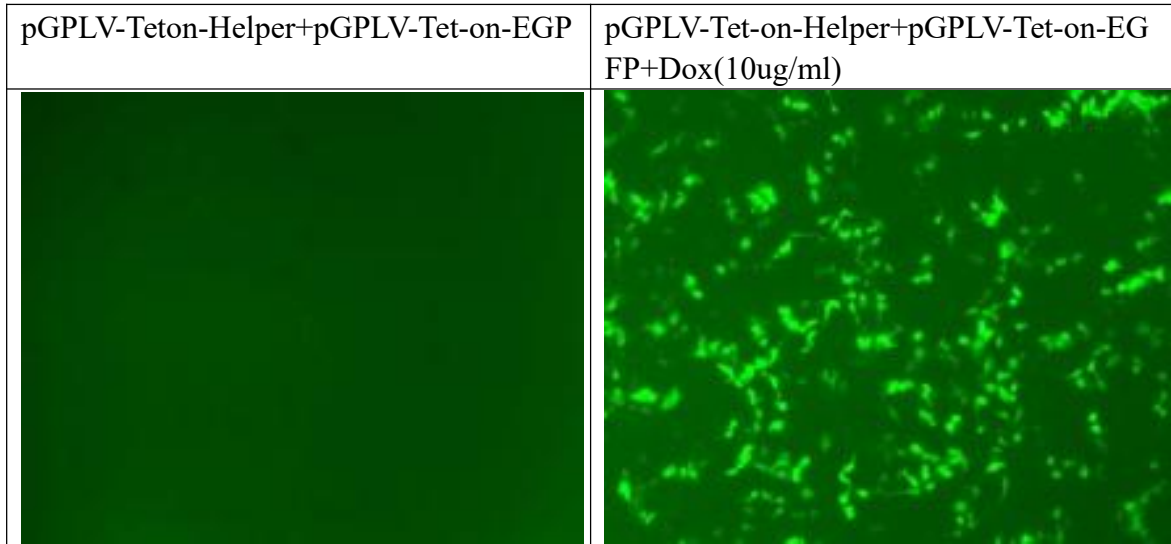
苏州电话: 0512-86668828

E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



B049-V001-20210625



说明:

1. 理论上 TRE Promoter 缺失增强子，但是对于一些特定的目的基因或在某些特定的细胞系中，可能会出现下游目的基因少量泄露表达的情况。但加入药物后，目的基因表达会明显提高。一些细胞培养血清可能含有四环素或其衍生物，可导致非预期的系统诱导。在诱导表达实验中需要检查你的血清是否含有四环素。
2. 四环素衍生物强力霉素(Doxycycline, Dox)是四环素诱导调控的首选效应物。Dox 与 rtTA 具有高亲和力，还具有良好的组织分布、低毒性。
3. Dox 浓度推荐为：10ug/ml (具体情况需要根据 Dox 产品信息进行优化摸索)。

如有疑问欢迎垂询

上海电话：021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话：0512-86668828

E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>



B049-V001-20210625