

# 体外（无细胞）蛋白表达试剂盒

产品名称	体外（无细胞）蛋白表达试剂盒
公司名称	蓝景科信（北京）技术有限公司
价格	.00/个
规格参数	
公司地址	北京市海淀区高里掌路3号院15号楼2单元1层101
联系电话	400-6187099 15632249798

## 产品详情

myTXTL 无细胞蛋白表达系统，数小时表达出目的蛋白

### 产品概述

myTXTL 是一种简单快速的蛋白质体外表达系统。此试剂盒基于大肠杆菌内源的转录(Transcription, TX)和翻译(Translation, TL)机制，在体外建立高效的无细胞反应体系。同时，可兼容T7表达系统，为您的研究提供更大的灵活性。

### 产品特点

操作简单 — 只需将DNA模板和myTXTL Master Mix混合

使用方便 — 仅需标准的实验室设备

快速 — 无需转化、克隆筛选或者细胞裂解等步骤

灵活 — 适用质粒，线性DNA或者RNA模板

通用性 — 兼容T7表达系统

### 产品应用

蛋白表达

高通量筛选

难以表达的蛋白

体外蛋白质分子定向进化

蛋白质功能鉴定

分子间互作分析

可溶蛋白和膜蛋白的表达

合成生物学

基因调控网络构建

噬菌体生产

快速成型

产品系列

myTXTL Sigma70 Master Mix Kit

基于E.coli的裂解液，Ready-to-Use预混液，适用于质粒模板的微量反应体系（12  $\mu$ L），根据需求可适度增大反应体系。

myTXTL Linear DNA Expression Kit

适用于线性DNA和质粒模板的蛋白表达。利用自动化液体处理设备，可以高通量筛选合成基因片段或PCR产物的大型DNA文库。

myTXTL T7 Expression Kit

表达T7启动子驱动的质粒和基因片段。该试剂盒提供了T7 RNA聚合酶的共表达质粒，用于驱动T7启动子调控基因的转录和翻译。

myTXTL Toolbox 2.0（质粒工具箱）

包含100多种带有不同启动子和开放阅读框(ORFs)的质粒，现有的ORFs包括常用的转录因子、TXTL调节元件和荧光报告蛋白，可以构建复杂的基因调控网络，研究基因调控和分子转化。

性能数据

图1. 使用myTXTL无细胞蛋白表达系统进行蛋白表达

使用含P70a或T7启动子的5-10 nM的DNA模板建立了11个12 L myTXTL无细胞蛋白表达反应体系，并在29 °C 孵育16小时。经丙酮沉淀后，每个反应取1L进行SDS-PAGE电泳。目的蛋白在图中用橙色标识符标记。

M：蛋白质Marker（10-250kDa）；Neg：没有DNA模板的阴性对照；GamS：截短的核酸酶抑制剂蛋白Gam；CALM：钙调蛋白样蛋白3；DHFR：二氢叶酸还原酶；CAT：氯霉素乙酰转移酶；deGFP：增强型GFP突变体；RLuc：海肾荧光素酶；FLuc：萤火虫荧光素酶；T7Pol：T7 RNA聚合酶；bGal：β-半乳糖苷酶；dCas9：dead Cas9。

## 图2. 使用myTXTL表达阳性对照deGFP蛋白

图A是将myTXTL Sigma70 Master Mix与deGFP对照质粒混合后的效果，图B是将图A的混合物进行29 °C 孵育后的效果，图C是表达的deGFP在紫外光下发出荧光的效果。

## 图3. 质粒浓度对蛋白产量的影响

内源性大肠杆菌TXTL机制(核心RNA聚合酶和 σ70因子)调节P70a载体上的基因表达。

## 图4. 使用T7表达系统在myTXTL中表达目的蛋白

T7 RNA聚合酶的共表达促进T7启动子调控的基因在myTXTL系统中表达。

## myTXTL Toolbox 2.0质粒工具箱是设计基因调控网络的利器

人工合成基因调控网络与体外蛋白质生产技术的结合，为医学和生物技术的应用开辟了很多新的领域，例如环境传感器、制造生物燃料的控制、干细胞医学、基因治疗(CRISPR)和功能材料的制造等。

无细胞平台有助于克服外源基因调控网络在宿主细胞中的很多限制，这些限制一方面是外源基因网络对活细胞有潜在的细胞毒性，另一方面是细胞中DNA复制，转录翻译，代谢产物等资源的可用性有限。相比之下，无细胞系统可以为基因调控网络提供一个更可控的环境，从而增加了基因调控网络的重复性和稳定性。

myTXTL Toolbox 2.0质粒工具箱，可以在myTXTL无细胞表达系统中构建各种基因回路。示例如下：

## 图5. 利用双基因转录级联反应完成T7启动子调控基因的表达

为了促进T7启动子调控基因在myTXTL系统中的表达，在系统中添加一个表达T7 RNA聚合酶的辅助质粒(P70a-T7rnap)，该质粒编码Sigma70特异性启动子，与myTXTL Master Mix兼容。表达的T7 RNA聚合酶促进T7启动子调控基因的表达(本图中是T7p14-deGFP质粒)。

## 图6. 生物逻辑门在myTXTL中的运用

在合成生物学中，逻辑门研究的目的是开发用于环境和医学决策的基因网络，其中生物逻辑门充当传感器、检测单元和药物载体。如图所示，在与门通路中，deGFP的表达既需要磷酸化的氮调节蛋白C (NtrC)，也需要转录因子Sigma54。

## 图7. 合成基因网络的快速成型

合成基因网络工程往往需要经历一个迭代的设计-构建-

测试周期，myTX TL无细胞表达技术可以加速这个周期的迭代。myTXTL利用大肠杆菌自身的TXTL（转录翻译）机制，提供了一个非常庞大的基因构建库。图中是一个由与门逻辑门和细菌转录因子组成的多级级联通路。

## 图8. 无细胞反应的区室化

将myTXTL反应封装到一个大的磷脂囊泡(脂质体)中是构建人造细胞的一个示例，该人造细胞与自然细胞有相似的细胞功能和复杂性。加入跨膜蛋白可以提供更多的传感选择并促进细胞通讯。也可以使用其他方法进行分隔，例如乳胶、液-液相分离、水凝胶和含聚合物膜隔室。

## 应用文献

### 合成单个蛋白

通过质粒和线性DNA模板在体外生产可溶性蛋白和膜蛋白。

Blume, C. et al. (2021) A novel ACE2 isoform is expressed in human respiratory epithelia and is upregulated in response to interferons and RNA respiratory virus infection. *Nature Genetics*.

Tekel, S.J. et al. (2018) Design, construction, and validation of histone-binding effectors in vitro and in cells. *Biochemistry*.

Guo, S. et al. (2017) Expressing biologically active membrane proteins in a cell-free transcription-translation platform. *bioRxiv*.

Marshall, R. et al. (2017) Short DNA containing sites enhances DNA stability and gene expression in *E. coli* cell-free transcription-translation systems. *Biotechnology and Bioengineering*.

### 噬菌体组装

利用单链DNA，双链DNA，mRNA等多种基因组形式，在体外合成大肠杆菌噬菌体，其基因组可达170 kbp，包含约300个基因。该技术在噬菌体治疗等新型生物医学应用方面具有很大的潜力。

Rustad, M. et al. (2018) Cell-free TXTL synthesis of infectious bacteriophage T4 in a single test tube reaction. *Synthetic Biology*.

Shin, J. et al. (2012) Genome replication, synthesis, and assembly of the bacteriophage T7 in a single cell-free reaction. *ACS Synthetic Biology*

## CRISPR

无细胞技术可以帮助更快地研究和验证间隔序列相邻的基序和Cas抑制蛋白。CRISPR-Cas系统，例如，通过促进DNA切割和基因抑制的定量动态测量，以及筛选与前

Galizi, R. et al. (2020) Engineered RNA-interacting CRISPR guide RNAs for genetic sensing and diagnostics. *The CRISPR Journal*.

Jacobsen, T. et al. (2020) Characterization of Cas12a nucleases reveals diverse PAM profiles between closely-related orthologs. *Nucleic Acids Research*.

Watters, K.E. et al. (2018) Systematic discovery of natural CRISPR-Cas12a inhibitors. *Science*.

## 高通量筛选

无细胞蛋白表达技术是在复杂的高通量筛选环境中生成可靠数据的有效手段，可以推进很多领域研究项目的进展。

Marshall, R. et al. (2020) Rapid testing of CRISPR nucleases and guide RNAs in an E. coli cell-free transcription translation system. *STAR Protocols*.

Wandera, K.G. et al. (2019) An enhanced assay to characterize anti-CRISPR proteins using a cell-free transcription translation system. *Methods*.

Yim, S.S. et al. (2019) Multiplex transcriptional characterizations across diverse and hybrid bacterial cell-free expression systems. *Molecular Systems Biology*.

## 人造细胞

通过无细胞技术可以合成由分子和脂质膜构成的细胞反应器，概括其生物功能，是了解生命物质的关键。

Garenne, D. et al. (2020) Membrane molecular crowding enhances MreB polymerization to shape synthetic cells from spheres to rods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

Garamella, J. et al. (2019) An adaptive synthetic cell based on mechanosensing, biosensing, and inducible gene circuits. *ACS Synthetic Biology*.

Izri, Z. et al. (2019) Gene expression in on-chip membrane-bound artificial cells. *ACS Synthetic Biology*.

## 基因调控网络构建 ( Gene Circuits )

利用各种基本回路motifs探索基因回路的设计和动力学特征，并列举出微滴内的合成原型。

Adhikari, A. et al. (2020) Effective biophysical modeling of cell free transcription and translation processes. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*.

Shojaeian, M. et al. (2019) On-demand production of femtoliter drops in microchannels and their use as biological reaction compartments. *Analytical Chemistry*.

Yelleswarapu, M. et al. (2018) Sigma factor-mediated tuning of bacterial cell-free synthetic genetic oscillators. *ACS Synthetic Biology*

## 产品列表

货号	产品名称	规格	产品组分

505024	myTXTL T7 Expression Kit	24rxns	
505096	06rxns		LS70 Master MIX
			P70a-T7map HP
			T7p14-deGFP HP
507024	myTXTL Sigma70 Master Mix Kit	Sigma 70 Master Mix	
		P70a(2)-deGFP Positive Control	
507096	06rxns	Plasmid	
508024	myTXTL Linear DNA Expression Kit	LS70 Master Mix	
		P70a-deGFP Linear Positive Control	
508096	06rxns	Fragment	

myTXTL Toolbox 2.0质粒清单