

Plant Binary Control Vector pRI 201-ON-GUS DNA

Code No. 3267

Size: 10 μ g (0.2 OD)

Shipping at -20°C

Stored at -20°C

Lot No.

Concentration:

0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

Volume:

20 μl

Regarding protocol, please refer to the product manual supplied with this vector.

Description: pRI 201-ON-GUS DNA is a binary vector for expression of *E. coli* beta-glucuronidase (GUS) gene in monocotyledonous plant cells. This vector has both a 5' non-coding region of rice alcohol dehydrogenase (ADH) gene as a translational enhancer and a terminator of Arabidopsis heat shock protein (HSP) gene as a highly efficient terminator. Having MCS2 at the downstream of HSP terminator allows the simultaneous expression of multiple genes, by inserting the expression cassette including a different gene into the MCS2. The 5'-UTR of rice ADH functions as a translational enhancer in monocotyledonous plants such as rice, and also in dicotyledonous plants such as tobacco or Arabidopsis.

pRI 201-ON-GUS DNA is a shuttle vector, and replicates autonomously in *E. coli* and *Rhizobium (Agrobacterium)*.

* This product was developed by TaKaRa Bio Inc. to which Nara Institute of Science and Technology provided supports and samples.

Form: 10 mM Tris-HCl, pH 8.0
1 mM EDTA

Preparation: Purification by column treatment

Base pairs: 12,263 bp

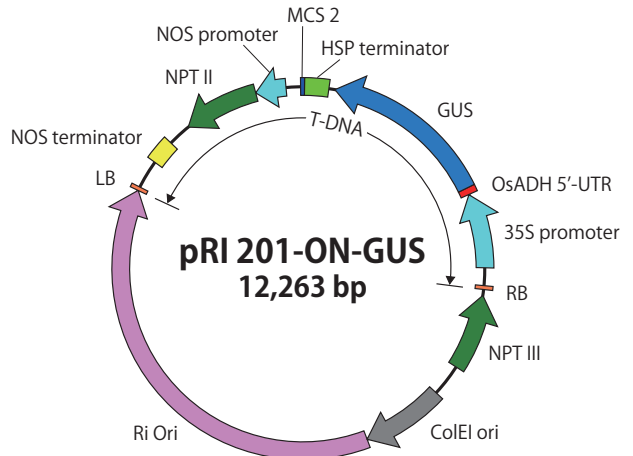
Shelf life: 2 years from date of receipt under proper storage conditions.

Quality control:

1. Contains over 70% double-stranded covalently closed circular form I (RFI).
2. Shown to retain cloning sites by dideoxy sequencing method.
3. Shown to be cleavage at a single site by restriction enzymes specific to these sites.

Usage: This is a vector for transformation of plants such as Rice, using *Rhizobium (Agrobacterium)* which is available for binary vector method.

Vector map of pRI 201-ON-GUS DNA:



ColEI ori: Replication origin in *E. coli*

Ri ori: Replication origin in *Rhizobium (Agrobacterium)*

RB, LB: T-DNA border sequences

NOS promoter, NOS terminator: Promoter or Terminator for expression of selectable marker gene in plant

NPT II: Selectable marker gene in plant

HSP terminator: Terminator for expression of foreign gene in plant

GUS: β -glucuronidase gene of *E. coli*

OsADH 5'-UTR: 5' non-coding region of Rice Alcohol dehydrogenase (translational enhancer)

35S promoter: Cauliflower mosaic virus (CaMV) promoter for expression of target gene in plant

NPT III: Selectable marker gene in *E. coli* or *Rhizobium (Agrobacterium)*

Cloning site: See the other side of this sheet.

Reference:

- 1) T. Sugio, J. Satoh, H. Matsuura, A. Shinmyo and K. Kato (2008) : *J. Bioscience and Bioengineering*, **105** (3), 300-302
- 2) S. Nagaya, K. Kawamura, A. Shinmyo and K. Kato (2010): *Plant & Cell Physiology*, in press. doi: 10.1093/pcp/pcp188
- 3) R. Nishiguchi, M. Takanami, and A. Oka (1987) : *Molecular and General Genetics*, **206**, 1-8
- 4) J. Satoh, K. Kato and A. Shinmyo (2004) : *J. Bioscience and Bioengineering*, **98** (1), 1-8
- 5) T. Sugio, H. Matsuura, T. Matsui, M. Matsunaga, T. Noshio, S. Kanaya, A. Shinmyo and K. Kato (2010): *J. Bioscience and Bioengineering*, in press. doi:10.1016/j.jbiosc.2009.07.009

Note

This product is intended to be used for research purpose only. They are not to be used for drug or diagnostic purposes, nor are they intended for human use. They shall not to be used products as food, cosmetics, or utensils, etc.

Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from TAKARA BIO INC.

If you require licenses for other use, please call at +81 77 543 7247 or contact from our website at www.takara-bio.com.

植物形質転換用コントロールベクター

pRI 201-ON-GUS DNA

Code No. 3267

Size: 10 μ g (0.2 OD)

Shipping at -20°C

Stored at -20°C

Lot No. (英文面をご覧ください。)

濃度: (英文面をご覧ください。)

容量: (英文面をご覧ください。)

本製品の使用方法については、製品添付の取扱説明書をご確認ください。

●製品説明

pRI 201-ON-GUS DNA は、植物への形質転換においてポジティブコントロールとして汎用される GUS (β -glucuronidase) 遺伝子の高発現を目的としたコントロールベクターである。カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) の 35S プロモーターの下流にイネ ADH (Alcohol Dehydrogenase) 遺伝子由来の 5' 非翻訳領域 (5'-UTR) を、また汎用されているアグロバクテリウム NOS (Nopaline Synthase) 遺伝子由来 terminator に換えてシロイヌナズナ HSP (Heat Shock Protein) 遺伝子由来 terminator を搭載しており、GUS 遺伝子の高発現が期待される。さらに、HSP terminator の下流にクローニングサイト (MCS2) が組み込まれているため、この部分に他の遺伝子を発現カセットごと組み込めば、同時に他の遺伝子を発現させることが可能である。なお、イネ ADH 5'-UTR はイネなどの単子葉植物に加え、タバコ、シロイヌナズナなどの双子葉植物でも翻訳エンハンサーとして機能する。

本ベクターは、大腸菌および *Rhizobium* (*Agrobacterium*) 中で自律的に複製するシャトルベクターである。

* 本ベクターは、国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学より技術および試料の提供を受けて、タカラバイオ(株)が製品化したしました。

●形状 10 mM Tris-HCl, pH 8.0
1 mM EDTA

●調製 カラム処理によりプラスミド DNA を精製。

●鎖長 12,263 bp

●クローニングサイト図

M4 GTTTTCCAGTCACGAC →

M3 GTAAACGACGCCAGT →

M2 CCCAGTCACGACGTT →

M1 AGTCACGACGTTGTA →

5' GTTTTTCCAGTCACGACGTTGTAAACGACGCCAGTGCCAAGCTTTCGA... CaMV 35S promoter ...
3' CAAAAGGGTCAGTGCTGCAACATTTTCTGCCGGTCACGGTTCGAACGT... (801 bp) ...

... GGGGACTCTAGA... OsADH 5'-UTR (101 bp) ... CAT ATG GUS (1812 bp) ... TCGACAATTC...
... CCCCTGAGATCT... GTA TAC ... AGCTGTTAAG...

... GAGCTC... Sac I ... HSP terminator (250 bp) ... GAATTGGTACCTGCGGCCGCTGGATCCCGGAATTCGTAATCATGGTTCATA... 3'
... CTCGAG... Kpn I Not I Sma I ... CTTAACCATGGACGCCGGCAGCTAGGGCCCTTAAGCATTAGTACCAAGTAT... 5'

MCS2

← CAGTATCGACAAAGGAC RV

v201004Da

●保存 -20°C
適切に保存し、受け取り後 2 年を目途にご使用ください。

●純度

1. 二重鎖 covalently closed circular form (RFI) を 70% 以上含んでいる。
2. Dideoxy 法によるシーケンスの結果、クローニングサイトが保持されていることを確認している。
3. クローニングサイトにおいてのみ 1 ヶ所切断する制限酵素について、その切断を確認している。

●用途

バイナリーベクター法による植物形質転換に使用できる *Rhizobium* (*Agrobacterium*) を利用したイネなどの単子葉植物の形質転換、および外来遺伝子の高発現のためのコントロールベクター。

●参考文献

- 1) T. Sugio, J. Satoh, H. Matsuura, A. Shinmyo and K. Kato (2008) : *J. Bioscience and Bioengineering*, **105** (3), 300-302
- 2) S. Nagaya, K. Kawamura, A. Shinmyo and K. Kato (2010): *Plant & Cell Physiology*, in press. doi: 10, 1093/pcp/pcp188
- 3) R. Nishiguchi, M. Takanami, and A. Oka (1987) : *Molecular and General Genetics*, **206**, 1-8
- 4) J. Satoh, K. Kato and A. Shinmyo (2004) : *J. Bioscience and Bioengineering*, **98** (1), 1-8
- 5) T. Sugio, H. Matsuura, T. Matsui, M. Matsunaga, T. Noshio, S. Kanaya, A. Shinmyo and K. Kato (2010): *J. Bioscience and Bioengineering*, in press. doi:10.1016/j.jbiosc.2009.07.009

●pRI 201-ON-GUS DNA のベクターマップ
(英文面をご覧ください。)

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。

注) OsADH 5'-UTR は内部に *Eco*R I サイトを、GUS 遺伝子は内部に *Bam*H I をそれぞれ含む。

* *Eco*R I site is located in OsADH 5'-UTR and *Bam*H I site is located in GUS gene.

製品についての
技術的なお問い合わせ先

TaKaRa テクニカルサポートライン

Tel 077-543-6116
Fax 077-543-1977