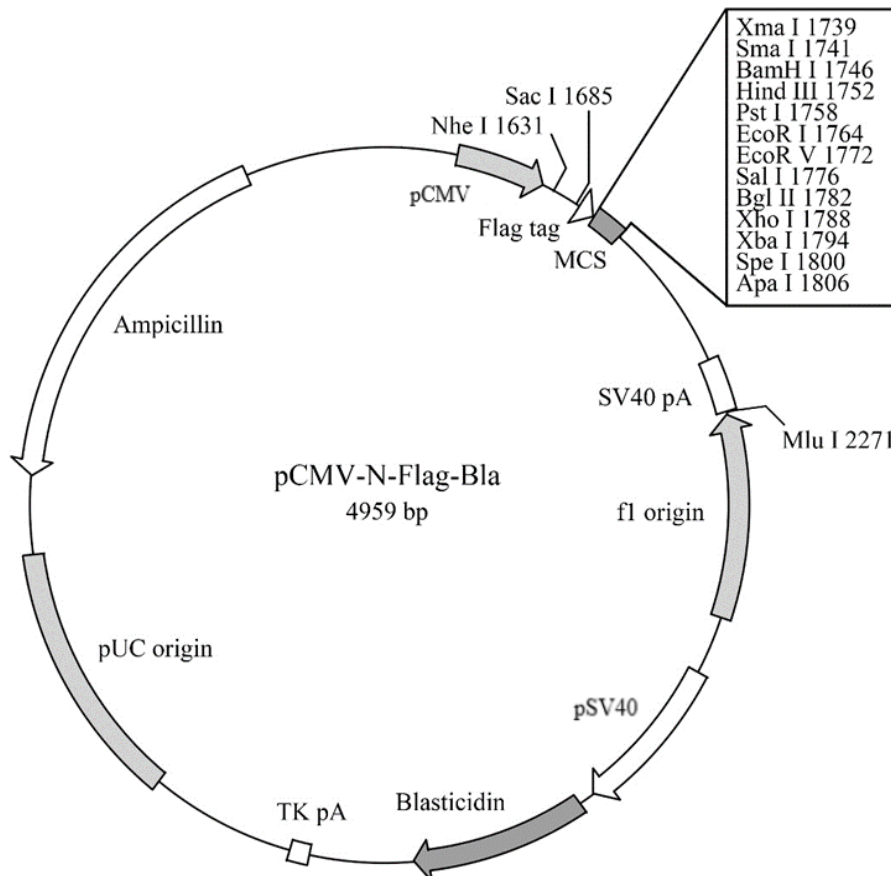


pCMV-N-Flag-Bla

产品编号	产品名称	包装
D2771-1μg	pCMV-N-Flag-Bla	1μg
D2771-100μg	pCMV-N-Flag-Bla	100μg

产品简介:

- pCMV-N-Flag-Bla是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达N端带有Flag标签(Flag Tag, DYKDDDDK)的目的蛋白的表达质粒。该质粒含有CMV启动子可以高效启动目的蛋白在细胞中的表达；在多克隆位点的5'端含有一个编码Flag标签的序列，可以表达带有Flag标签的融合蛋白，因此可以方便地利用抗Flag的抗体来识别目的蛋白，从而有利于目的蛋白检测和分离纯化。
- pCMV-N-Flag-Bla质粒为氨苄青霉素抗性和灭瘟素S (Blasticidin S)抗性，可利用其氨苄青霉素抗性转化大肠杆菌后筛选阳性菌；而在转染哺乳动物细胞后，可利用其Blasticidin S抗性筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。Blasticidin S (ST018)可以从碧云天购买。
- Blasticidin S是来源于灰色链霉菌(*Streptomyces griseochromogenes*)的一种核苷类抗生素，中文名为灭瘟素S、杀稻瘟菌素S或稻瘟散。Blasticidin S特异性地抑制原核细胞或真核细胞的蛋白质合成，从而杀死细胞。Blasticidin S抗性基因(*bsr/BSD/bls*)所编码的Blasticidin S脱氨酶可以催化Blasticidin S发生脱氨基反应生成对细胞无毒性的Blasticidin S脱氨甲基化衍生物，从而使细胞对Blasticidin S产生抗性。因此，Blasticidin S可用于筛选携带*bsr/BSD/bls*基因(常标记为*bsr^r/bsd^r/Blast^r*)质粒的哺乳动物稳定转染细胞株，也可用于大肠杆菌等原核细胞的筛选。
- Blasticidin S具有快速而强效的作用模式，通常可在不到一周的时间内即可筛选到具有Blasticidin S抗性的稳定哺乳动物细胞系。工作浓度范围1-50μg/ml，通常建议使用10μg/ml的浓度进行稳定哺乳动物细胞株的筛选，实际使用时应针对不同的细胞系测试Blasticidin S的浓度梯度，以确定最佳使用浓度。
- pCMV-N-Flag-Bla质粒(4959bp)的图谱如下:



- pCMV-N-Flag-Bla质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
---------	------------	----------

Ampicillin resistance ORF	63-923
CMV promoter	1405-1608
T3 promoter and T3 primer binding site	1654-1672
Flag tag	1713-1736
Multiple cloning site (XmaI-ApaI)	1739-1811
T7 promoter and T7 primer binding site	1857-1875
SV40 polyA signal	2149-2270
f1 origin of ss-DNA replication	2277-2732
SV40 promoter	2865-3222
Blasticidin resistance ORF	3257-3655
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	3887-3934
pUC origin	4263-4851

➤ pCMV-N-Flag-Bla的多克隆位点的详细图谱如下:

					Flag tag						
	SacI				M	D	Y	K	D	D	D
1685	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCCATGGA	TTACAAGGAT	GACGACGATA						
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGGTACCT	AATGTTTCCTA	CTGCTGCTAT						
	XmaI		PstI								
	K	SmaI	BamHI	HindIII	EcoRI	EcoRV	SalI	BglII			
1735	AGAGCCCGGG	CGGATCCAAG	CTTCTGCAGG	AATTCGATAT	CGTCGACAGA						
	TCTCGGGCCC	GCCTAGGTTC	GAAGACGTCC	TTAAGCTATA	GCAGCTGTCT						
	XhoI	XbaI	SpeI	ApaI							
1785	TCTCTCGAGT	CTAGAACTAG	TGGGCCCGGT	ACCTTAATTA	ATTAAGGTAC						
	AGAGAGCTCA	GATCTTGATC	ACCCGGGCCA	TGGAATTAAT	TAATTCCATG						

➤ pCMV-N-Flag-Bla中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pCMV-N-Flag-Bla)包括:

Afe I	Afl II	Age I	Asc I	AsiS I	Bae I
BbvC I	BmgB I	Bpu10 I	BsiW I	BsmB I	BspE I
BspQ I	BsrG I	BssH II	BstE II	BstZ17 I	EcoN I
Esp3 I	Fse I	Kas I	Nar I	PflF I	PflM I
PluT I	Pme I	Pml I	PshA I	PspX I	RsrI I
Sap I	Sbf I	Sfo I	SgrA I	Swa I	Tth111 I
Xcm I					

➤ pCMV-N-Flag-Bla中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pCMV-N-Flag-Bla once)包括:

AccI	GT`MK,AC	1777	MfeI	C`AATT,G	2135
AhdI	GACNN,N`NNGTC	135	MluI	A`CGCG,T	2271
AleI	CACNN NNGTG	1695	MscI	TGG CCA	3260
ApaI	G,GGCC`C	1806	NdeI	CA`TA,TG	1274
BamHI	G`GATC,C	1746	NheI	G`CTAG,C	1631
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	3342	NotI	GC`GGCC,GC	1702
BcgI	NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN`	639	NruI	TCG CGA	3488
BclI	T`GATC,A	2042	Paer7I	C`TCGA,G	1788
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	3707	PciI	A`CATG,T	4907
BglII	A`GATC,T	1782	PpuMI	RG`GWC,CY	3416
BlpI	GC`TNA,GC	3652	PspOMI	G`GGCC,C	1806
BmtI	G,CTAG`C	1631	PstI	C,TGCA`G	1758
BsaXI	NNN`(N) ₉ AC(N) ₅ CTCC(N) ₇ ,NNN`	2432	SacI	G,AGCT`C	1685
BseRI	GAGGAG(N) ₈ ,NN`	3201	SacII	CC,GC`GG	1694
BsgI	GTGCAG(N) ₁₄ ,NN`	3442	SalI	G`TCGA,C	1776
BspDI	AT`CG,AT	3225	ScaI	AGT ACT	616
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	3707	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3157
BstBI	TT`CG,AA	3671	SmaI	CCC GGG	1741
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1693	SnaBI	TAC GTA	1380
ClaI	AT`CG,AT	3225	SpeI	A`CTAG,T	1800

DraIII	CAC, NNN`GTG	2498	SrfI	GCCC GGGC	1741
EarI	CTCTTCN`NNN,	931	StuI	AGG CCT	3206
Eco53kI	GAG CTC	1687	TspMI	C`CCGG, G	1739
EcoRI	G`AATT, C	1764	XbaI	T`CTAG, A	1794
EcoRV	GAT ATC	1772	XhoI	C`TCGA, G	1788
HindIII	A`AGCT, T	1752	XmaI	C`CCGG, G	1739
HpaI	GTT AAC	2148	XmnI	GAANN NNTTC	735

➤ pCMV-N-Flag-Bla质粒中对插入片段进行测序时，推荐使用的正向测序引物T3和反向测序引物T7的序列如下：

T3 primer (1654-1672): 5' AATTAACCCTCACTAAAGG 3'

T7 primer (1857-1875): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'

➤ pCMV-N-Flag-Bla的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

➤ 不同真核表达质粒的比较和选择，以及标签和抗性的考虑可以参考如下网页：

<https://www.beyotime.com/goods.do?method=lcode&lcode=001001001004>

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D2771-1μg	pCMV-N-Flag-Bla	1μg
D2771-100μg	pCMV-N-Flag-Bla	100μg
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存。

注意事项：

- 本质粒未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途，也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 首次使用1μg包装的本产品时，请先取少量本质粒转化大肠杆菌，进行质粒小量、中量或大量抽提后再用于后续用途。抽提获得的质粒可以通过酶切电泳进行鉴定，或通过测序进行鉴定。
2. 100μg包装的本产品质粒浓度为0.1μg/μl，共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。
3. pCMV-N-Flag-Bla质粒在其多克隆位点适当酶切后可以插入待表达的目的基因，需注意插入基因片段和tag之间的读码框要一致，即需要避免发生移码突变。构建的质粒可以用常规方法转染细胞。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
ST018-10mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg
ST018-1ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×1ml
ST018-50mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	50mg
ST018-5ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×5ml
D2771-1μg	pCMV-N-Flag-Bla	1μg
D2771-100μg	pCMV-N-Flag-Bla	100μg
D2772-1μg	pCMV-N-HA-Bla	1μg
D2772-100μg	pCMV-N-HA-Bla	100μg
D2773-1μg	pCMV-N-Myc-Bla	1μg
D2773-100μg	pCMV-N-Myc-Bla	100μg
D2774-1μg	pCMV-C-Flag-Bla	1μg
D2774-100μg	pCMV-C-Flag-Bla	100μg
D2775-1μg	pCMV-C-HA-Bla	1μg
D2775-100μg	pCMV-C-HA-Bla	100μg
D2776-1μg	pCMV-C-Myc-Bla	1μg
D2776-100μg	pCMV-C-Myc-Bla	100μg
D2777-1μg	pCMV-N-Flag-Hyg	1μg
D2777-100μg	pCMV-N-Flag-Hyg	100μg
D2778-1μg	pCMV-N-HA-Hyg	1μg

D2778-100µg	pCMV-N-HA-Hyg	100µg
D2779-1µg	pCMV-N-Myc-Hyg	1µg
D2779-100µg	pCMV-N-Myc-Hyg	100µg
D2780-1µg	pCMV-C-Flag-Hyg	1µg
D2780-100µg	pCMV-C-Flag-Hyg	100µg
D2781-1µg	pCMV-C-HA-Hyg	1µg
D2781-100µg	pCMV-C-HA-Hyg	100µg
D2782-1µg	pCMV-C-Myc-Hyg	1µg
D2782-100µg	pCMV-C-Myc-Hyg	100µg
D2783-1µg	pCMV-N-Flag-Zeo	1µg
D2783-100µg	pCMV-N-Flag-Zeo	100µg
D2784-1µg	pCMV-N-HA-Zeo	1µg
D2784-100µg	pCMV-N-HA-Zeo	100µg
D2785-1µg	pCMV-N-Myc-Zeo	1µg
D2785-100µg	pCMV-N-Myc-Zeo	100µg
D2786-1µg	pCMV-C-Flag-Zeo	1µg
D2786-100µg	pCMV-C-Flag-Zeo	100µg
D2787-1µg	pCMV-C-HA-Zeo	1µg
D2787-100µg	pCMV-C-HA-Zeo	100µg
D2788-1µg	pCMV-C-Myc-Zeo	1µg
D2788-100µg	pCMV-C-Myc-Zeo	100µg
D2789-1µg	pCMV-N-Flag-Pur	1µg
D2789-100µg	pCMV-N-Flag-Pur	100µg
D2790-1µg	pCMV-N-HA-Pur	1µg
D2790-100µg	pCMV-N-HA-Pur	100µg
D2791-1µg	pCMV-N-Myc-Pur	1µg
D2791-100µg	pCMV-N-Myc-Pur	100µg
D2792-1µg	pCMV-C-Flag-Pur	1µg
D2792-100µg	pCMV-C-Flag-Pur	100µg
D2793-1µg	pCMV-C-HA-Pur	1µg
D2793-100µg	pCMV-C-HA-Pur	100µg
D2794-1µg	pCMV-C-Myc-Pur	1µg
D2794-100µg	pCMV-C-Myc-Pur	100µg
D2632-1µg	pCMV-C-Flag	1µg
D2632-100µg	pCMV-C-Flag	100µg
D2639-1µg	pCMV-C-HA	1µg
D2639-100µg	pCMV-C-HA	100µg
D2650-1µg	pCMV-C-His	1µg
D2650-100µg	pCMV-C-His	100µg
D2672-1µg	pCMV-C-Myc	1µg
D2672-100µg	pCMV-C-Myc	100µg
D2722-1µg	pCMV-N-Flag	1µg
D2722-100µg	pCMV-N-Flag	100µg
D2733-1µg	pCMV-N-HA	1µg
D2733-100µg	pCMV-N-HA	100µg
D2737-1µg	pCMV-N-His	1µg
D2737-100µg	pCMV-N-His	100µg
D2756-1µg	pCMV-N-Myc	1µg
D2756-100µg	pCMV-N-Myc	100µg