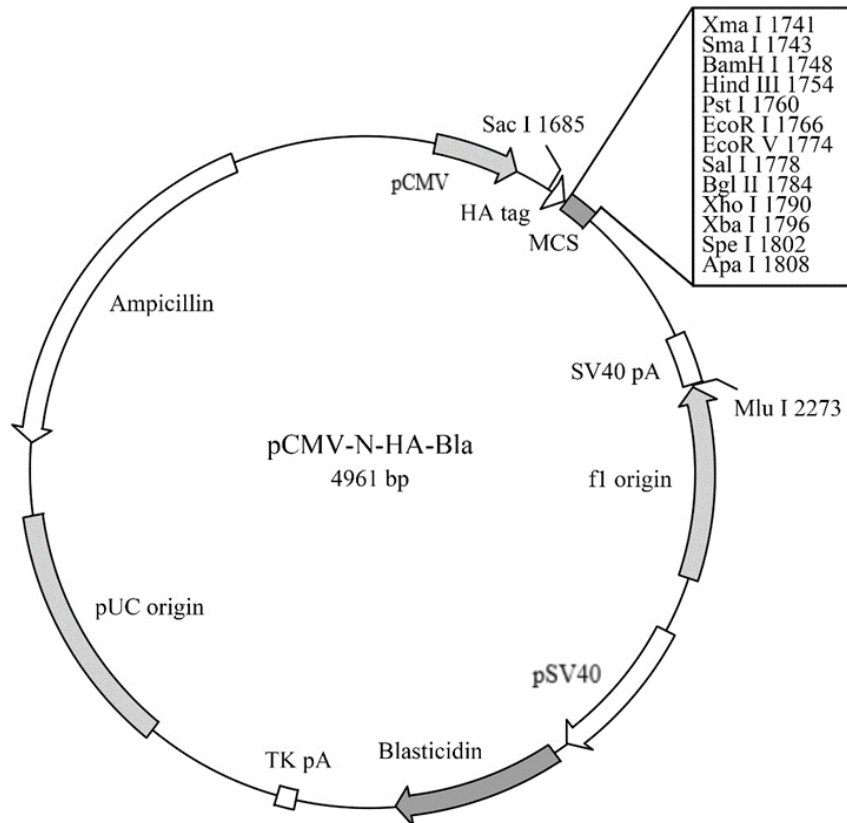


## pCMV-N-HA-Bla

产品编号	产品名称	包装
D2772-1μg	pCMV-N-HA-Bla	1μg
D2772-100μg	pCMV-N-HA-Bla	100μg

### 产品简介:

- pCMV-N-HA-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HA标签(HA Tag, YPYDVPDYA)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HA标签的序列,可以表达带有HA标签的融合蛋白,因此可以方便地利用抗HA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-HA-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脱氨羟基化衍生物,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<sup>r</sup>/bsd<sup>r</sup>/Blast<sup>r</sup>*)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-HA-Bla质粒(4961bp)的图谱如下:



- pCMV-N-HA-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
HA tag	1712-1738
Multiple cloning site (XmaI-ApaI)	1741-1813
T7 promoter and T7 primer binding site	1859-1877
SV40 polyA signal	2151-2272
f1 origin of ss-DNA replication	2279-2734
SV40 promoter	2867-3224
Blasticidin resistance ORF	3259-3657
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	3889-3936
pUC origin	4265-4853

➤ pCMV-N-HA-Bla的多克隆位点的详细图谱如下:

				HA tag								
	SacI			M	Y	P	Y	D	V	P	D	Y
1685	GAGCTCCACG	CGGTGGCGGC	CGCC	ATGTAC	CCATACGATG	TTCCAGATTA						
	CTCGAGGTGC	GCCACCGCCG	GCGG	TACATG	GGTATGCTAC	AAGGTCTAAT						
		XmaI										
		A										
			SmaI		BamHI	HindIII		EcoRI	EcoRV	SalI	BglII	
1735	CGCTAGCCCG	GCGGATCCA	AGCTTCTGCA	GGAATTCGAT	ATCGTCGACA							
	GCGATCGGGC	CCGCCTAGGT	TCGAAGACGT	CCTTAAGCTA	TAGCAGCTGT							
			XhoI	XbaI	SpeI	ApaI						
1785	GATCTCTCGA	GTCTAGAACT	AGTGGGCCCG	GTACCTTAAT	TAATTAAGGT							
	CTAGAGAGCT	CAGATCTTGA	TCACCCGGGC	CATGGAATTA	ATTAATTCCA							

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

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

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

AccI	GT`MK,AC	1779	MscI	TGG CCA	3262
AhdI	GACNN,N`NNGTC	135	NdeI	CA`TA,TG	1274
ApaI	G,GGCC`C	1808	NotI	GC`GGCC,GC	1701
BamHI	G`GATC,C	1748	NruI	TCG CGA	3490
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	3344	Paer7I	C`TCGA,G	1790
BcgI	NN`(N) <sub>10</sub> CGA(N) <sub>6</sub> TGC(N) <sub>10</sub> ,NN`	639	PciI	A`CATG,T	4909
BclI	T`GATC,A	2044	PflMI	CCAN,NNN`NTGG	1693
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	3709	PpuMI	RG`GWC,CY	3418
BglII	A`GATC,T	1784	PspOMI	G`GGCC,C	1808
BlpI	GC`TNA,GC	3654	PstI	C,TGCA`G	1760
BsaXI	NNN`(N) <sub>9</sub> AC(N) <sub>5</sub> CTCC(N) <sub>7</sub> ,NNN`	2434	SacI	G,AGCT`C	1685
BseRI	GAGGAG(N) <sub>8</sub> ,NN`	3203	SalI	G`TCGA,C	1778
BsgI	GTGCAG(N) <sub>14</sub> ,NN`	3444	ScaI	AGT ACT	616
BspDI	AT`CG,AT	3227	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3159
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	3709	SmaI	CCC GGG	1743
BstBI	TT`CG,AA	3673	SnaBI	TAC GTA	1380
ClaI	AT`CG,AT	3227	SpeI	A`CTAG,T	1802
EarI	CTCTTCN`NNN,	931	SrfI	GCCC GGGC	1743
Eco53kI	GAG CTC	1687	StuI	AGG CCT	3208
EcoRI	G`AATT,C	1766	TspMI	C`CCGG,G	1741
EcoRV	GAT ATC	1774	XbaI	T`CTAG,A	1796

HindIII	A`AGCT,T	1754	XhoI	C`TCGA,G	1790
HpaI	GTT AAC	2150	XmaI	C`CCGG,G	1741
MfeI	C`AATT,G	2137	XmnI	GAANN NNTTC	735
MluI	A`CGCG,T	2273			

- pCMV-N-HA-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 (1859-1877): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'
- pCMV-N-HA-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
D2772-1μg	pCMV-N-HA-Bla	1μg
D2772-100μg	pCMV-N-HA-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：

- 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。
- 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。
- pCMV-N-HA-Bla质粒在其多克隆位点适当酶切后可以插入待表达的基因，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

Version 2020.11.25