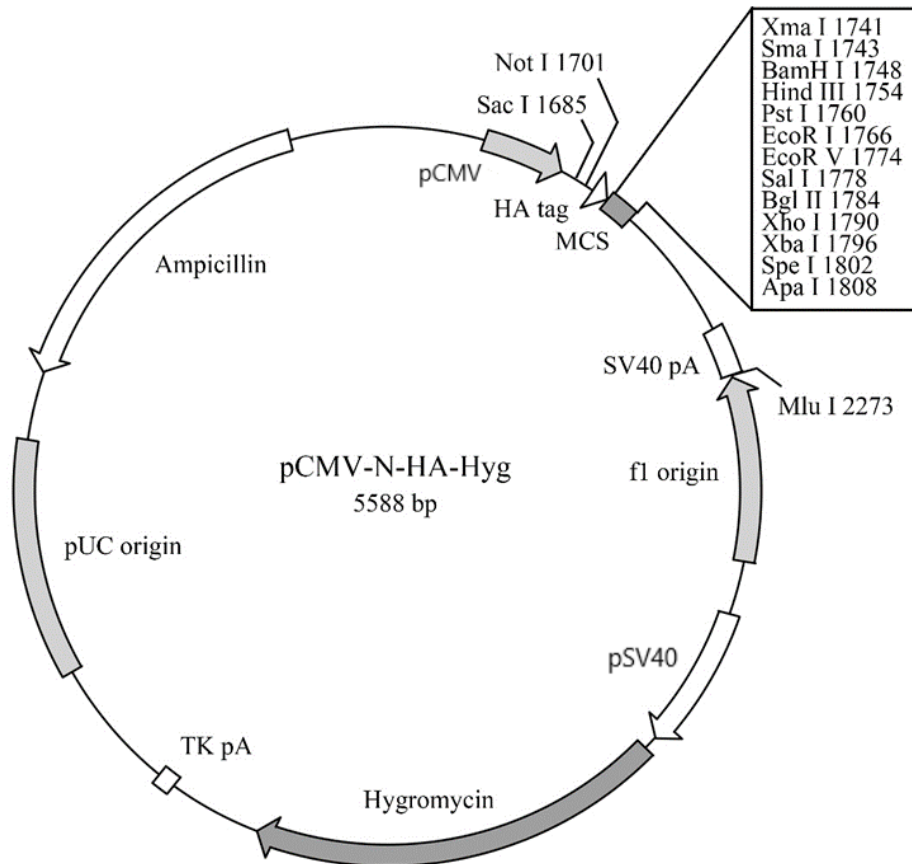


pCMV-N-HA-Hyg

产品编号	产品名称	包装
D2778-1μg	pCMV-N-HA-Hyg	1μg
D2778-100μg	pCMV-N-HA-Hyg	100μg

产品简介:

- pCMV-N-HA-Hyg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)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，可以表达含有HA标签的融合蛋白，因此可以方便地使用抗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-Hyg质粒为氨苄青霉素抗性和潮霉素B (Hygromycin B)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Hygromycin B抗性筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。Hygromycin B (ST1389)可以从碧云天购买。
- Hygromycin B是来源于吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)的一种氨基糖苷类抗生素，可通过中断易位并增加80S核糖体上的错误翻译而抑制蛋白质的合成，从而杀死原核或真核细胞。大肠杆菌来源的Hygromycin B抗性基因(*hyg*或*hph*)所编码的Hygromycin B磷酸转移酶可将Hygromycin B磷酸化，导致其失活，从而使细胞对Hygromycin B产生抗性。因此，Hygromycin B可用于筛选成功转染Hygromycin B抗性基因的原核或真核细胞。
- Hygromycin B用于细胞筛选的浓度范围是100~1000μg/ml，实际应用时应针对不同的细胞系测试Hygromycin B的浓度梯度，确定最佳使用浓度。
- pCMV-N-HA-Hyg质粒(5588bp)的图谱如下：



- pCMV-N-HA-Hyg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
Hygromycin resistance ORF	3259-4284
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	4516-4563
pUC origin	4892-5480

➤ pCMV-N-HA-Hyg的多克隆位点的详细图谱如下:

		HA tag										
		SacI	NotI	M	Y	P	Y	D	V	P	D	Y
1685	GAGCTCCACG	CGGTGGCGGC	CGCC	ATGTAC	CCATACGATG	TTCCAGATTA						
	CTCGAGGTGC	GCCACCGCCG	GCGG	TACATG	GGTATGCTAC	AAGGTCTAAT						
		XmaI	PstI									
		A	SmaI	BamHI	HindIII	EcoRI	EcoRV	SalI	BglII			
1735	CGCTAGCCCCG	GGCGGATCCA	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-Hyg中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pCMV-N-HA-Hyg)包括:

Afe I	Afl II	Age I	Ale I	Asc I	Bae I
BbsI	BbvC I	Blp I	BmgB I	Bpu10 I	Bsg I
BsiW I	BsmB I	BspQ I	BsrG I	BssH II	BstE II
BstX I	BstZ17 I	EcoN I	Esp3 I	Fse I	Kas I
Msc I	Nar I	Nru I	PluT I	Pme I	Pml I
PpuM I	PspX I	Sac I	Sap I	Sbf I	Sfo I
SgrA I	Swa I	Xcm I			

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

AccI	GT`MK,AC	1779	Paer7I	C`TCGA,G	1790
ApaI	G,GGCC`C	1808	PciI	A`CATG,T	5536
AsiSI	GCG,AT`CGC	3621	PflFI	GACN`N,NGTC	3763
BamHI	G`GATC,C	1748	PflMI	CCAN,NNN`NTGG	1693
BcgI	NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN`	639	PshAI	GACNN NNGTC	3286
BclI	T`GATC,A	2044	PspOMI	G`GGCC,C	1808
BglII	A`GATC,T	1784	PstI	C,TGCA`G	1760
BsaXI	NNN`(N) ₉ AC(N) ₅ CTCC(N) ₇ ,NNN`	2434	PvuII	CAG CTG	2885
BseRI	GAGGAG(N) ₈ ,NN`	3203	RsrII	CG`GWC,CG	3667
BspDI	AT`CG,AT	3227	SacI	G,AGCT`C	1685
BstBI	TT`CG,AA	4300	SalI	G`TCGA,C	1778
ClaI	AT`CG,AT	3227	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3159
CspCI	NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN`	1414	SmaI	CCC GGG	1743
EarI	CTCTTCN`NNN,	931	SnaBI	TAC GTA	1380
Eco53kI	GAG CTC	1687	SpeI	A`CTAG,T	1802
EcoRI	G`AATT,C	1766	SrfI	GCCC GGGC	1743
EcoRV	GAT ATC	1774	StuI	AGG CCT	3208
HindIII	A`AGCT,T	1754	TspMI	C`CCGG,G	1741
HpaI	GTT AAC	2150	Tth111I	GACN`N,NGTC	3763
MfeI	C`AATT,G	2137	XbaI	T`CTAG,A	1796
MluI	A`CGCG,T	2273	XhoI	C`TCGA,G	1790
NdeI	CA`TA,TG	1274	XmaI	C`CCGG,G	1741
NotI	GC`GGCC,GC	1701	XmnI	GAANN NNTTC	735

➤ pCMV-N-HA-Hyg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-Hyg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
D2778-1μg	pCMV-N-HA-Hyg	1μg
D2778-100μg	pCMV-N-HA-Hyg	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-HA-Hyg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
ST1389-50mg	Hygromycin B(潮霉素B)	50mg
ST1389-250mg	Hygromycin B(潮霉素B)	250mg
ST1389-1g	Hygromycin B(潮霉素B)	1g
ST1389-5g	Hygromycin B(潮霉素B)	5g
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