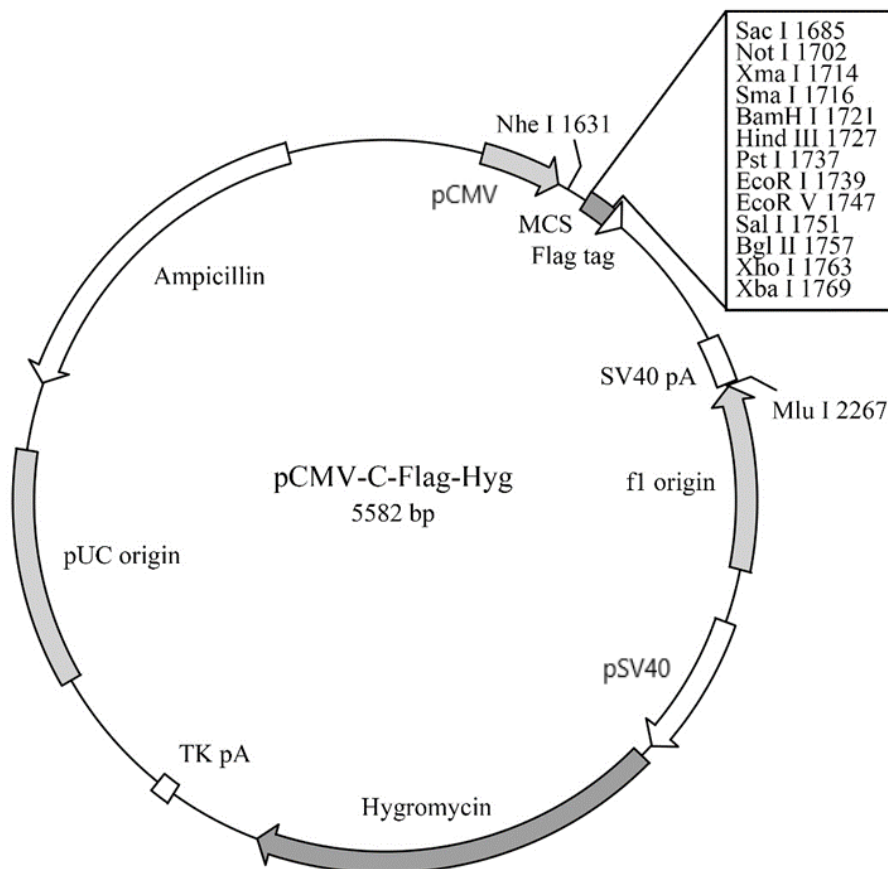


PCMV-C-Flag-Hyg

产品编号	产品名称	包装
D2780-1μg	pCMV-C-Flag-Hyg	1μg
D2780-100μg	pCMV-C-Flag-Hyg	100μg

产品简介:

- pCMV-C-Flag-Hyg是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达C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3'端含有一个编码Flag标签的序列,可以表达含有Flag标签的融合蛋白,因此可以方便地使用抗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-C-Flag-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-C-Flag-Hyg质粒(5582bp)的图谱如下:



- pCMV-C-Flag-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
Flag tag	1775-1798
Multiple cloning site (SacI-XbaI)	1685-1774
T7 promoter and T7 primer binding site	1853-1871
SV40 polyA signal	2145-2266
f1 origin of ss-DNA replication	2273-2728
SV40 promoter	2861-3218
Hygromycin resistance ORF	3253-4278
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	4510-4557
pUC origin	4886-5474

➤ pCMV-C-Flag-Hyg的多克隆位点的详细图谱如下:

			XmaI		PstI	
	SacI	NotI	SmaI	BamHI	HindIII	
1685	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCTCTAGC	CCGGGCGGAT	CCAAGCTTCT	
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGAGATCG	GGCCCGCCTA	GGTTCGAAGA	
					Flag tag	
	EcoRI	EcoRV	SalI	BglIII	XhoI	XbaI
	D	Y	K			
1735	GCAGGAATTC	GATATCGTCG	ACAGATCTCT	CGAGTCTAGA	GATTACAAGG	
	CGTCCTTAAG	CTATAGCAGC	TGTCTAGAGA	GCTCAGATCT	CTAATGTTCC	
	D	D	D	D	K	ApaI
1785	ATGACGACGA	TAAGTAAAGG	CCCGGTACCT	TAATTAATTA	AGGTACCAGG	
	TACTGCTGCT	ATTCATTCCC	GGGCCATGGA	ATTAATTAAT	TCCATGGTCC	

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

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

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

AccI	GT`MK,AC	1752	NheI	G`CTAG,C	1631
AleI	CACNN NNGTG	1695	NotI	GC`GGCC,GC	1702
ApaI	G,GGCC`C	1802	Paer7I	C`TCGA,G	1763
AsiSI	GCG,AT`CGC	3615	PciI	A`CATG,T	5530
BamHI	G`GATC,C	1721	PflFI	GACN`N,NGTC	3757
BcgI	NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN`	639	PshAI	GACNN NNGTC	3280
BclI	T`GATC,A	2038	PspOMI	G`GGCC,C	1802
BglII	A`GATC,T	1757	PstI	C,TGCA`G	1737
BmtI	G,CTAG`C	1631	PvuII	CAG CTG	2879
BsaXI	NNN`(N) ₉ AC(N) ₅ CTCC(N) ₇ ,NNN`	2428	RsrII	CG`GWC,CG	3661
BseRI	GAGGAG(N) ₈ ,NN`	3197	SacI	G,AGCT`C	1685
BspDI	AT`CG,AT	3221	SacII	CC,GC`GG	1694
BstBI	TT`CG,AA	4294	SalI	G`TCGA,C	1751
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1693	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3153
ClaI	AT`CG,AT	3221	SmaI	CCC GGG	1716
CspCI	NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN`	1414	SnaBI	TAC GTA	1380
EarI	CTCTTCN`NNN,	931	SrfI	GCCC GGGC	1716
Eco53kI	GAG CTC	1687	StuI	AGG CCT	3202
EcoRI	G`AATT,C	1739	TspMI	C`CCGG,G	1714
EcoRV	GAT ATC	1747	Tth111I	GACN`N,NGTC	3757
HindIII	A`AGCT,T	1727	XbaI	T`CTAG,A	1769
HpaI	GTT AAC	2144	XhoI	C`TCGA,G	1763

MfeI	C`AATT,G	2131	XmaI	C`CCGG,G	1714
MluI	A`CGCG,T	2267	XmnI	GAANN NNTTC	735
NdeI	CA`TA,TG	1274			

➤ pCMV-C-Flag-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 (1853-1871): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'

➤ pCMV-C-Flag-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
D2780-1μg	pCMV-C-Flag-Hyg	1μg
D2780-100μg	pCMV-C-Flag-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-C-Flag-Hyg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
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