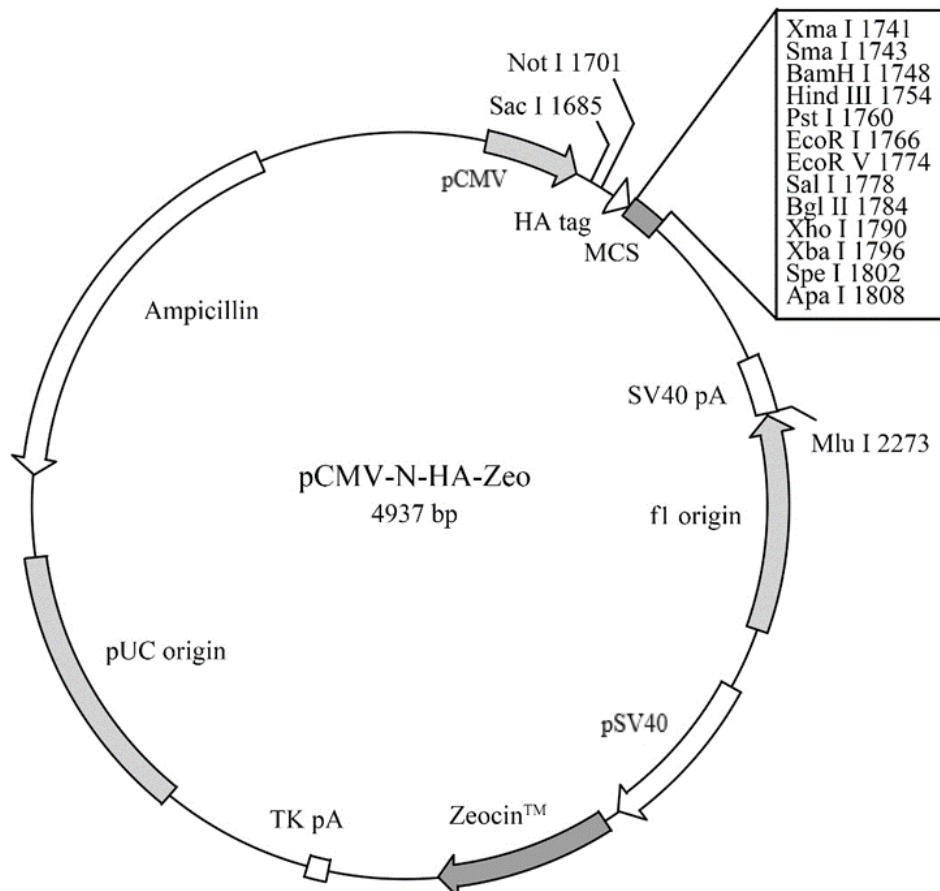


pCMV-N-HA-Zeo

产品编号	产品名称	包装
D2784-1μg	pCMV-N-HA-Zeo	1μg
D2784-100μg	pCMV-N-HA-Zeo	100μg

产品简介:

- pCMV-N-HA-Zeo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的检测和分离纯化。
- pCMV-N-HA-Zeo质粒为氨苄青霉素抗性和Zeocin(博来霉素)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,而在转染细胞后,可利用其Zeocin抗性筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。Zeocin (ST1450)可以从碧云天购买。
- Zeocin是来源于轮枝链霉菌(*Streptomyces verticillus*)的一种碱性、水溶性、铜离子螯合的糖肽抗生素。当Zeocin进入细胞后,与其螯合的Cu²⁺被还原并被细胞内巯基化合物去除,导致Zeocin被活化,嵌入细胞DNA使其断裂,并最终导致细胞死亡。印度链异壁菌(*Streptoalloteichus hindustanus*)来源的Sh *ble*基因编码一种14kDa大小的蛋白,能够以化学计量方式结合Zeocin,抑制其DNA双链断裂活性,使细胞对Zeocin产生抗性。因此,Zeocin可用于筛选成功转染携带Sh *ble*基因质粒的原核或真核细胞。
- Zeocin筛选浓度范围为50-1000μg/ml,实际使用时应针对不同的细胞系测试Zeocin的浓度梯度,以确定最佳使用浓度。
- pCMV-N-HA-Zeo质粒(4937bp)的图谱如下:



- pCMV-N-HA-Zeo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
Zeocin™ resistance ORF	3259-3633
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	3865-3912
pUC origin	4241-4829

➤ pCMV-N-HA-Zeo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	CGCCATGTAC	CCATACGATG	TTCCAGATTA								
	CTCGAGGTGC	GCCACCGCCG	GCGGTACATG	GGTATGCTAC	AAGGTCTAAT								
		XmaI											
	A	SmaI	BamHI	HindIII		EcoRI	EcoRV	SalI	BglII				
1735	CGCTAGCCCG	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-Zeo中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pCMV-N-HA-Zeo)包括:

Afe I	Afl II	Age I	Ale I	Asc I	AsiS I
Bae I	Bbs I	BbvC I	Blp I	Bpu10 I	Bsg I
BsiW I	BsmB I	BspE I	BspQ I	BsrG I	BstE II
BstX I	BstZ17 I	EcoN I	Esp3 I	Kas I	Nar I
Nru I	PflF I	PluT I	Pme I	Pml I	PpuM I
PshA I	PspX I	Rsr II	Sac II	Sap I	Sbf I
Sfo I	Swa I	Tth111 I	Xcm I		

➤ pCMV-N-HA-Zeo中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pCMV-N-HA-Zeo 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	Paer7I	C`TCGA,G	1790
BcgI	NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN`	639	PciI	A`CATG,T	4885
BclI	T`GATC,A	2044	PflMI	CCAN,NNN`NTGG	1693
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN	3685	PspOMI	G`GGCC,C	1808
BglII	A`GATC,T	1784	PstI	C,TGCA`G	1760
BmgBI	CAC GTC	3393	PvuII	CAG CTG	2885
BspDI	AT`CG,AT	3227	SacI	G,AGCT`C	1685
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN	3685	SalI	G`TCGA,C	1778
BssHII	G`CGCG,C	3295	ScaI	AGT ACT	616
BstBI	TT`CG,AA	3649	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3159
ClaI	AT`CG,AT	3227	SgrAI	CR`CCGG,YG	3373
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
FseI	GG,CCGG`CC	3531	TspMI	C`CCGG,G	1741
HindIII	A`AGCT,T	1754	XbaI	T`CTAG,A	1796
HpaI	GTT AAC	2150	XhoI	C`TCGA,G	1790
MfeI	C`AATT,G	2137	XmaI	C`CCGG,G	1741

- pCMV-N-HA-Zeo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-Zeo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
D2784-1μg	pCMV-N-HA-Zeo	1μg
D2784-100μg	pCMV-N-HA-Zeo	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-Zeo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
ST1450-20mg	Zeocin (博莱霉素)	20mg
ST1450-100mg	Zeocin (博莱霉素)	100mg
ST1450-0.25ml	Zeocin (博莱霉素)	20mg/ml×0.25ml
ST1450-1ml	Zeocin (博莱霉素)	20mg/ml×1ml
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 2020.10.10