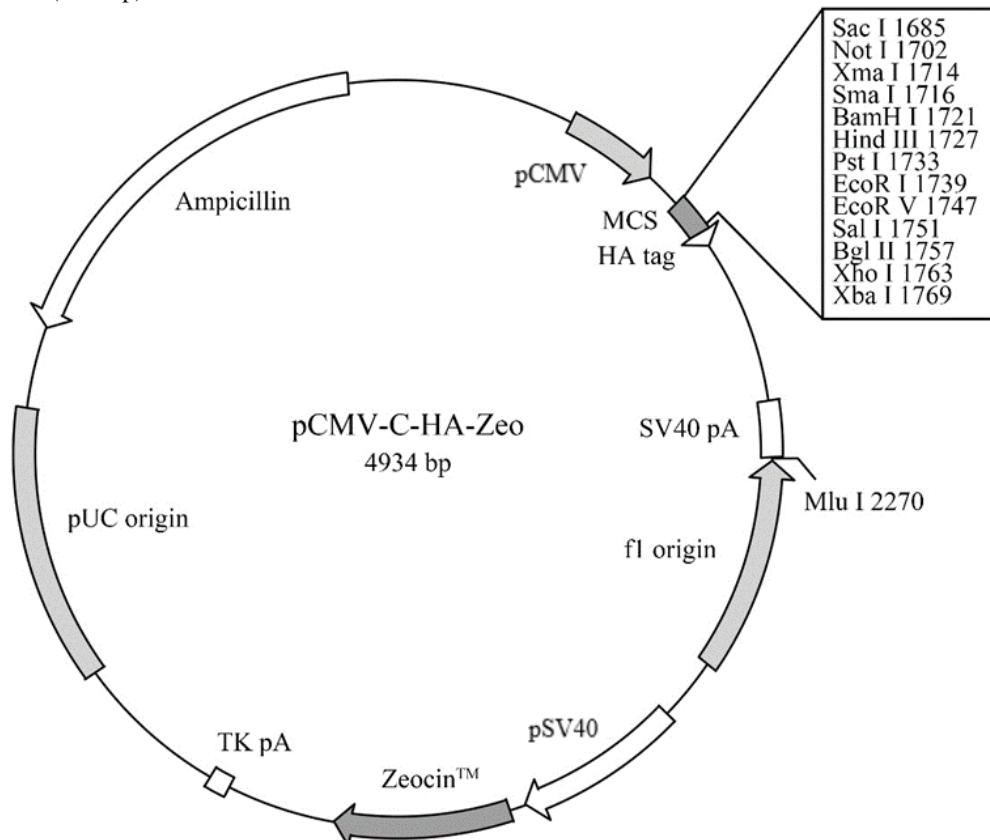


## pCMV-C-HA-Zeo

产品编号	产品名称	包装
D2787-1μg	pCMV-C-HA-Zeo	1μg
D2787-100μg	pCMV-C-HA-Zeo	100μg

### 产品简介:

- pCMV-C-HA-Zeo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HA标签(HA Tag)的目的蛋白的表达质粒。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-C-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Cu<sup>2+</sup>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-C-HA-Zeo质粒(4934bp)的图谱如下:



- pCMV-C-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		1775-1801

Multiple cloning site (SacI-XbaI)	1685-1774
T7 promoter and T7 primer binding site	1856-1874
SV40 polyA signal	2148-2269
f1 origin of ss-DNA replication	2276-2731
SV40 promoter	2864-3221
Zeocin™ resistance ORF	3256-3630
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	3862-3909
pUC origin	4238-4826

➤ pCMV-C-HA-Zeo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		
						HA tag	
	EcoRI	EcoRV	SalI	BglIII	XhoI	XbaI	Y P Y
1735	GCAGGAATTC	GATATCGTTCG	ACAGATCTCT	CGAGTCTAGA	TACCCATACG		
	CGTCTTAAG	CTATAGCAGC	TGTCTAGAGA	GCTCAGATCT	ATGGGTATGC		
	D V P D Y A		ApaI				
1785	ATGTTCCAGA	TTACGCTTAA	GGGCCCGGTA	CCTTAATTAA	TTAAGGTACC		
	TACAAGGTCT	AATGCGAATT	CCCGGGCCAT	GGAATTAATT	AATTCATGG		

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

Afe I	Age 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	BstZ17 I	EcoN I
Esp3 I	Kas I	Nar I	Nru I	PflF I	PflM I
PluT I	Pme I	Pml I	PpuM I	PshA I	PspX I
Rsr II	Sap I	Sbf I	Sfo I	Spe I	Swa I
Tth111 I	Xcm I				

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

AccI	GT`MK, AC	1752	MfeI	C`AATT, G	2134
AflII	C`TTAA, G	1800	MluI	A`CGCG, T	2270
AhdI	GACNN, N`NNGTC	135	MscI	TGG CCA	3259
AleI	CACNN NNGTG	1695	NdeI	CA`TA, TG	1274
ApaI	G, GGCC`C	1805	NheI	G`CTAG, C	1631
BamHI	G`GATC, C	1721	NotI	GC`GGCC, GC	1702
BcgI	NN`(N) <sub>10</sub> CGA(N) <sub>6</sub> TGC(N) <sub>10</sub> , NN`	639	Paer7I	C`TCGA, G	1763
BclI	T`GATC, A	2041	PciI	A`CATG, T	4882
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN	3682	PspOMI	G`GGCC, C	1805
BglII	A`GATC, T	1757	PstI	C, TGCA`G	1733
BmgBI	CAC GTC	3390	PvuII	CAG CTG	2882
BmtI	G, CTAG`C	1631	SacI	G, AGCT`C	1685
BspDI	AT`CG, AT	3224	SacII	CC, GC`GG	1694
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN	3682	SalI	G`TCGA, C	1751
BssHII	G`CGCG, C	3292	ScaI	AGT ACT	616
BstBI	TT`CG, AA	3646	SfiI	GGCCN, NNN`NGGCC	3156
BstXI	CCAN, NNNN`NTGG	1693	SgrAI	CR`CCGG, YG	3370
ClaI	AT`CG, AT	3224	SmaI	CCC GGG	1716
CspCI	NN`(N) <sub>11</sub> CAA(N) <sub>5</sub> GTGG(N) <sub>10</sub> , NN`	1414	SnaBI	TAC GTA	1380
EarI	CTCTTCN`NNN	931	SrfI	GCCC GGGC	1716
Eco53kI	GAG CTC	1687	StuI	AGG CCT	3205
EcoRI	G`AATT, C	1739	TspMI	C`CCGG, G	1714
EcoRV	GAT ATC	1747	XbaI	T`CTAG, A	1769
FseI	GG, CCGG`CC	3528	XhoI	C`TCGA, G	1763
HindIII	A`AGCT, T	1727	XmaI	C`CCGG, G	1714

- pCMV-C-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 (1856-1874): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'
- pCMV-C-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
D2787-1μg	pCMV-C-HA-Zeo	1μg
D2787-100μg	pCMV-C-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：

- 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-C-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 2020.11.25