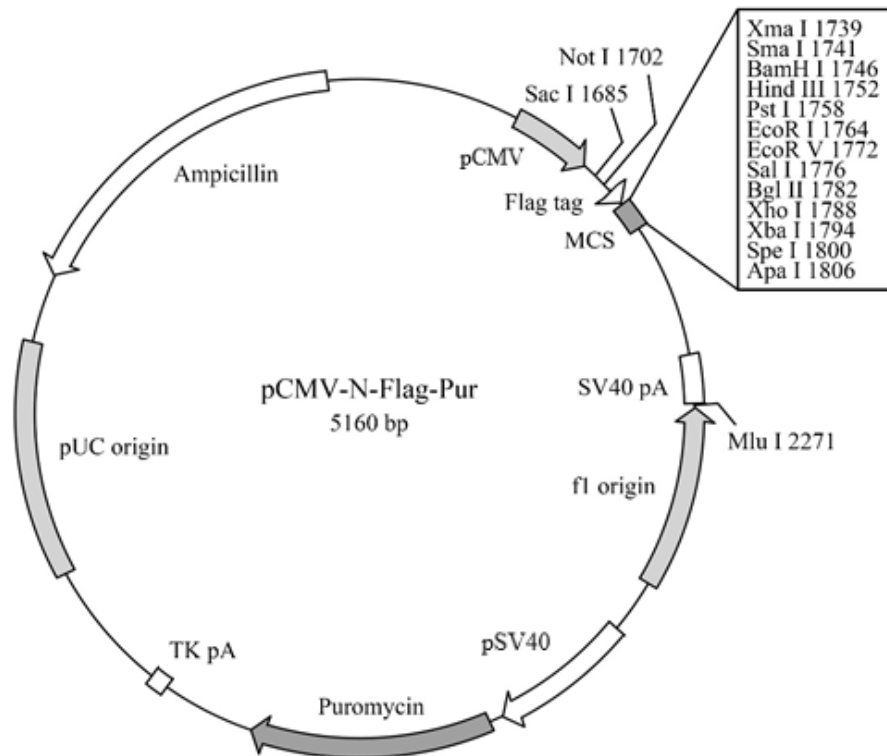


pCMV-N-Flag-Pur

产品编号	产品名称	包装
D2789-1μg	pCMV-N-Flag-Pur	1μg
D2789-100μg	pCMV-N-Flag-Pur	100μg

产品简介:

- pCMV-N-Flag-Pur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5'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-N-Flag-Pur质粒为氨苄青霉素抗性和嘌呤霉素(Puromycin)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Puromycin抗性筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。Puromycin (ST551)可以从碧云天购买。
- Puromycin是来源于白黑链霉菌的一种氨基苷类抗生素,可通过打乱核糖体上的肽转运,造成翻译过程中不成熟终止,从而抑制蛋白质合成,抑制或杀死细胞。链霉菌(*Streptomyces alboniger*)来源的*pac*基因所编码的嘌呤霉素N-乙酰转移酶(Puromycin N-acetyl-transferase)可以催化Puromycin发生乙酰化修饰而失活,使细胞对Puromycin产生抗性。因此, Puromycin可用来筛选成功转染携带Puromycin抗性基因质粒的原核或真核细胞。
- Puromycin是一种强效翻译抑制剂,作用迅速。一般2天内可以杀死99%的不表达*pac*基因的细胞,通常可在不到一周的时间内即可筛选到具有Puromycin抗性的稳定哺乳动物细胞系。推荐工作浓度范围为0.5-5μg/ml,实际使用时应针对不同的细胞系测试Puromycin的浓度梯度,以确定最佳使用浓度。
- pCMV-N-Flag-Pur质粒(5160bp)的图谱如下:



- pCMV-N-Flag-Pur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	1713-1736
Multiple cloning site (XmaI-ApaI)	1739-1811
T7 promoter and T7 primer binding site	1857-1875
SV40 polyA signal	2149-2270
f1 origin of ss-DNA replication	2277-2732
SV40 promoter	2865-3222
Puromycin resistance ORF	3257-3856
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	4088-4135
pUC origin	4464-5052

➤ pCMV-N-Flag-Pur的多克隆位点的详细图谱如下:

				Flag tag																
	SacI		NotI		M	D	Y	K	D	D	D	D								
1685	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCC	ATGGA	TTACAAGGAT	GACGACGATA														
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GCGGG	TACCT	AATGTTCCCTA	CTGCTGCTAT														
		XmaI																		
	K	SmaI	BamHI	HindIII																
1735	AGAGCCCGGG	CGGATCCAAG	CTTCTGCAGG	AATTCGATAT	CGTCGACAGA															
	TCTCGGGCCC	GCCTAGG TTC	GAAGACGTCC	TTAAGCTATA	GCAGCTGTCT															
		XhoI	XbaI	SpeI	ApaI															
1785	TCTCTCGAGT	CTAGAACTAG	TGGGCCCGGT	ACCTTAATTA	ATTAAGGTAC															
	AGAGAGCTCA	GATCTTGATC	ACCCGGGCCA	TGGAATTAAT	TAATTCCATG															

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

Afe I	Afl II	Age I	Asc I	AsiS I	Bae I
BbsI	BbvC I	Blp I	BmgB I	Bsg I	BspQ I
BsrG I	BstZ17 I	EcoN I	Fse I	Nru I	PflM I
Pme I	Pml I	PpuM I	PshA I	PspX I	Sap I
Sbf I	SgrA I	Swa I	Xcm I		

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

AccI	GT`MK,AC	1777	MfeI	C`AATT,G	2135
AhdI	GACNN,N`NNGTC	135	MluI	A`CGCG,T	2271
AleI	CACNN NNGTG	1695	MscI	TGG CCA	3632
ApaI	G,GGCC`C	1806	NdeI	CA`TA,TG	1274
BamHI	G`GATC,C	1746	NheI	G`CTAG,C	1631
BclI	T`GATC,A	2042	NotI	GC`GGCC,GC	1702
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN	3908	Paer7I	C`TCGA,G	1788
BglII	A`GATC,T	1782	PciI	A`CATG,T	5108
BmtI	G,CTAG`C	1631	PflFI	GACN`N,NGTC	3299
Bpu10I	CC`TNA,GC	3853	PspOMI	G`GGCC,C	1806
BseRI	GAGGAG(N) ₈ ,NN	3201	PstI	C,TGCA`G	1758
BsiWI	C`GTAC,G	3313	PvuII	CAG CTG	2883
BsmBI	CGTCTCN`NNNN	3649	RsrII	CG`GWC,CG	3373
BspDI	AT`CG,AT	3225	SacI	G,AGCT`C	1685
BspEI	T`CCGG,A	3370	SalI	G`TCGA,C	1776
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN	3908	ScaI	AGT ACT	616
BssHII	G`CGCG,C	3712	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3157
BstBI	TT`CG,AA	3872	SmaI	CCC GGG	1741
BstEII	G`GTNAC,C	3391	SnaBI	TAC GTA	1380
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1693	SpeI	A`CTAG,T	1800
ClaI	AT`CG,AT	3225	SrfI	GCCC GGGC	1741
CspCI	NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN`	1414	TspMI	C`CCGG,G	1739
Eco53kI	GAG CTC	1687	Tth111I	GACN`N,NGTC	3299
EcoRI	G`AATT,C	1764	XbaI	T`CTAG,A	1794
EcoRV	GAT ATC	1772	XhoI	C`TCGA,G	1788
Esp3I	CGTCTCN`NNNN	3649	XmaI	C`CCGG,G	1739

HindIII A`AGCT,T
HpaI GTT|AAC

1752 XmnI
2148

GAANN|NNTTC

735

- pCMV-N-Flag-Pur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 (1857-1875): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'
- pCMV-N-Flag-Pur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
D2789-1μg	pCMV-N-Flag-Pur	1μg
D2789-100μg	pCMV-N-Flag-Pur	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-Flag-Pur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
ST551-10mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml×1ml
ST551-50mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml×5ml
ST551-250mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	250mg
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