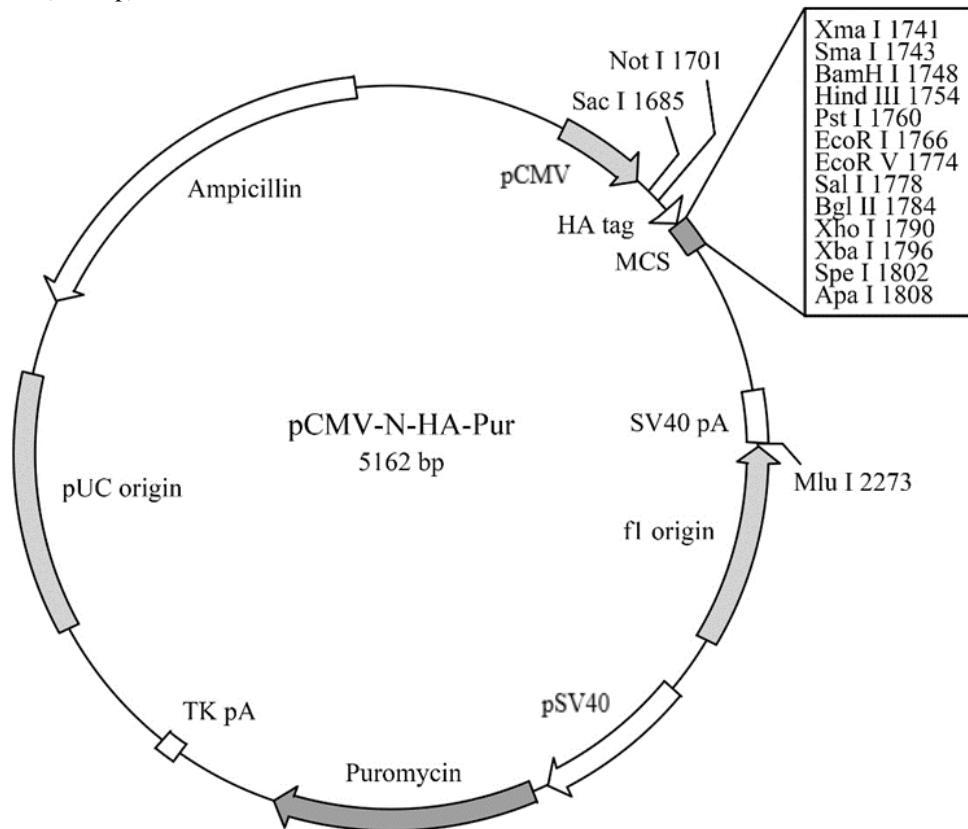


pCMV-N-HA-Pur

产品编号	产品名称	包装
D2790-1μg	pCMV-N-HA-Pur	1μg
D2790-100μg	pCMV-N-HA-Pur	100μg

产品简介:

- pCMV-N-HA-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-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-HA-Pur质粒(5162bp)的图谱如下：



- pCMV-N-HA-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

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
Puromycin resistance ORF	3259-3858
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	4090-4137
pUC origin	4466-5054

➤ pCMV-N-HA-Pur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			EcoRI	EcoRV	SalI	BglII			
1735	CGCTAGCCCCG	GCGGATCCA	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-Pur中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pCMV-N-HA-Pur)包括:

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

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

AccI	GT`MK,AC	1779	MscI	TGG CCA	3634
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
BclI	T`GATC,A	2044	PciI	A`CATG,T	5110
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN	3910	PflFI	GACN`N,NGTC	3301
BglII	A`GATC,T	1784	PflMI	CCAN,NNN`NTGG	1693
Bpu10I	CC`TNA,GC	3855	PspOMI	G`GGCC,C	1808
BseRI	GAGGAG(N) ₈ ,NN	3203	PstI	C,TGCA`G	1760
BsiWI	C`GTAC,G	3315	PvuII	CAG CTG	2885
BsmBI	CGTCTCN`NNNN	3651	RsrII	CG`GWC,CG	3375
BspDI	AT`CG,AT	3227	SacI	G,AGCT`C	1685
BspEI	T`CCGG,A	3372	SacII	CC,GC`GG	3471
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN	3910	SalI	G`TCGA,C	1778
BssHII	G`CGCG,C	3714	ScaI	AGT ACT	616
BstBI	TT`CG,AA	3874	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3159
BstEII	G`GTNAC,C	3393	SmaI	CCC GGG	1743
ClaI	AT`CG,AT	3227	SnaBI	TAC GTA	1380
CspCI	NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN`	1414	SpeI	A`CTAG,T	1802
Eco53kI	GAG CTC	1687	SrfI	GCCC GGGC	1743
EcoRI	G`AATT,C	1766	TspMI	C`CCGG,G	1741
EcoRV	GAT ATC	1774	Tth111I	GACN`N,NGTC	3301
Esp3I	CGTCTCN`NNNN	3651	XbaI	T`CTAG,A	1796
HindIII	A`AGCT,T	1754	XhoI	C`TCGA,G	1790
HpaI	GTT AAC	2150	XmaI	C`CCGG,G	1741
MfeI	C`AATT,G	2137	XmnI	GAANN NNTTC	735

- pCMV-N-HA-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 (1859-1877): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'
- pCMV-N-HA-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
D2790-1μg	pCMV-N-HA-Pur	1μg
D2790-100μg	pCMV-N-HA-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-HA-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-Hyg4	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