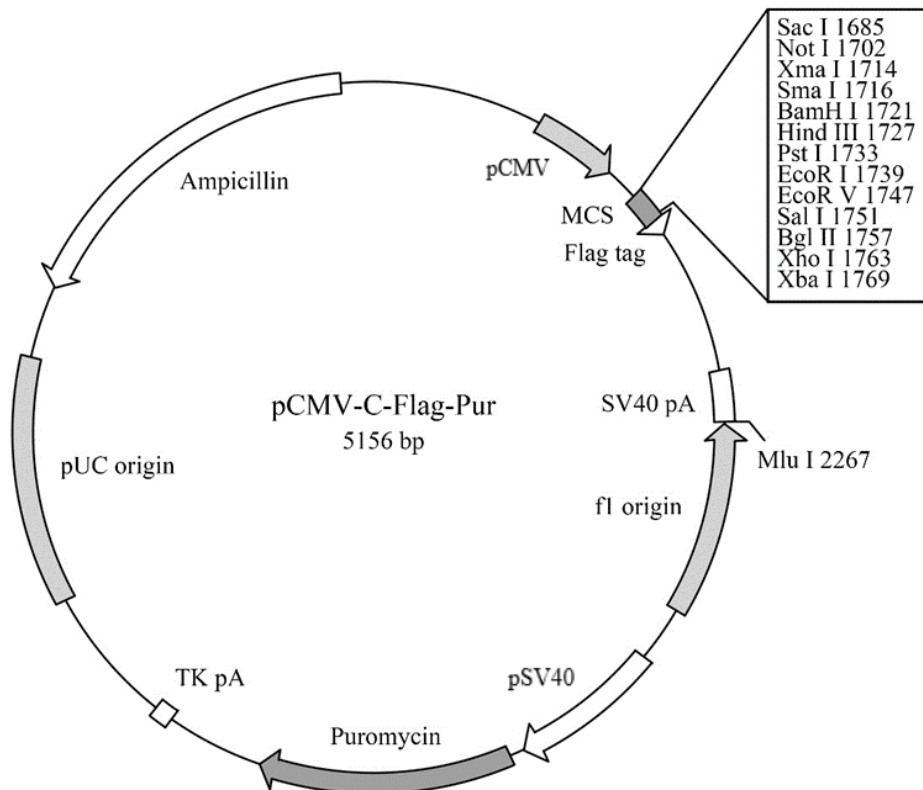


pCMV-C-Flag-Pur

产品编号	产品名称	包装
D2792-1μg	pCMV-C-Flag-Pur	1μg
D2792-100μg	pCMV-C-Flag-Pur	100μg

产品简介:

- pCMV-C-Flag-Pur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-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-C-Flag-Pur质粒(5156bp)的图谱如下:



- pCMV-C-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	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
Puromycin resistance ORF	3253-3852
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	4084-4131
pUC origin	4460-5048

➤ pCMV-C-Flag-Pur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	BglII	XhoI	XbaI	D	Y	K
1735	GCAGGAATTC	GATATCGTCG	ACAGATCTCT	CGAGTCTAGA	GATTACAAGG				
	CGTCCTTAAG	CTATAGCAGC	TGTCTAGAGA	GCTCAGATCT	CTAATGTTCC				
	D	D	D	D	K	ApaI			
1785	ATGACGACGA	TAAGTAA	GGG	CCCGGTACCT	TAATTAATTA	AGGTACCAGG			
	TACTGCTGCT	ATTCAT	CCC	GGGCCATGGA	ATTAATTAAT	TCCATGGTCC			

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

Afe I	Afl II	Age I	Asc I	AsiS I	Bae I
Bbs I	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	Spe I	Swa I	Xcm I	

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

AccI	GT`MK,AC	1752	HpaI	GTT AAC	2144
AhdI	GACNN,N`NNGTC	135	MfeI	C`AATT,G	2131
AleI	CACNN NNGTG	1695	MluI	A`CGCG,T	2267
ApaI	G,GGCC`C	1802	MscI	TGG CCA	3628
BamHI	G`GATC,C	1721	NdeI	CA`TA,TG	1274
BclI	T`GATC,A	2038	NheI	G`CTAG,C	1631
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN	3904	NotI	GC`GGCC,GC	1702
BglII	A`GATC,T	1757	Paer7I	C`TCGA,G	1763
BmtI	G,CTAG`C	1631	PciI	A`CATG,T	5104
Bpu10I	CC`TNA,GC	3849	PflFI	GACN`N,NGTC	3295
BseRI	GAGGAG(N) ₈ ,NN	3197	PspOMI	G`GGCC,C	1802
BsiWI	C`GTAC,G	3309	PstI	C,TGCA`G	1733
BsmBI	CGTCTCN`NNNN	3645	PvuII	CAG CTG	2879
BspDI	AT`CG,AT	3221	RsrII	CG`GWC,CG	3369
BspEI	T`CCGG,A	3366	SacI	G,AGCT`C	1685
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN	3904	SalI	G`TCGA,C	1751
BsshII	G`CGCG,C	3708	ScaI	AGT ACT	616
BstBI	TT`CG,AA	3868	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3153
BstEII	G`GTNAC,C	3387	SmaI	CCC GGG	1716
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1693	SnaBI	TAC GTA	1380
ClaI	AT`CG,AT	3221	SrfI	GCCC GGGC	1716
CspCI	NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN`	1414	TspMI	C`CCGG,G	1714
Eco53kI	GAG CTC	1687	Tth111I	GACN`N,NGTC	3295
EcoRI	G`AATT,C	1739	XbaI	T`CTAG,A	1769
EcoRV	GAT ATC	1747	XhoI	C`TCGA,G	1763
Esp3I	CGTCTCN`NNNN	3645	XmaI	C`CCGG,G	1714

- pCMV-C-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 (1853-1871): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'
- pCMV-C-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
D2792-1μg	pCMV-C-Flag-Pur	1μg
D2792-100μg	pCMV-C-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：

- 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-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