

## pCMV-3X Flag-LTA

产品编号	产品名称	包装
D3032-1μg	pCMV-3X Flag-LTA	1μg
D3032-100μg	pCMV-3X Flag-LTA	100μg

### 产品简介:

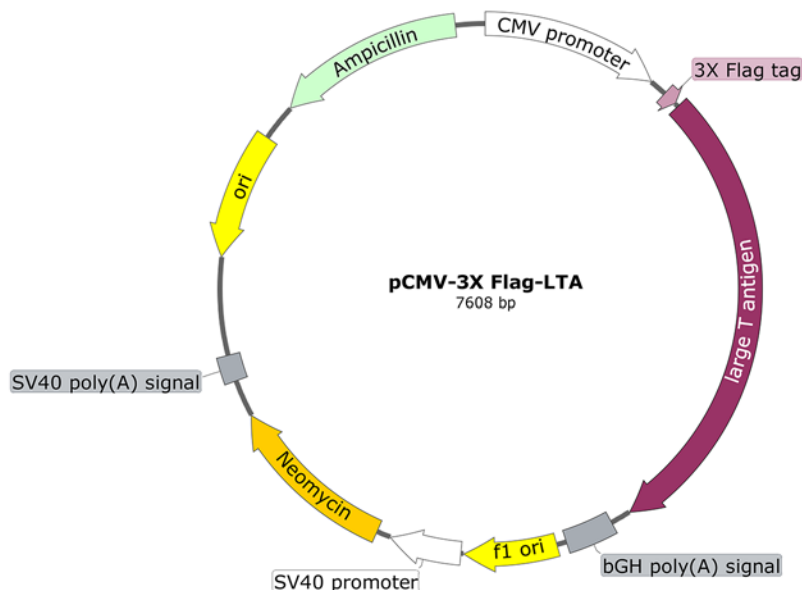
➤ pCMV-3X Flag-LTA是碧云天自行研发生产的用于在哺乳动物细胞中表达带有3X Flag标签的LTA (large T antigen) (1-708aa) 融合蛋白的质粒，可以方便地使用抗Flag标签的抗体来识别LTA蛋白的表达，或进行免疫共沉淀分析等。该质粒含有CMV启动子，可以高效启动目的蛋白在细胞中的表达；带有氨苄青霉素(Ampicillin)抗性和新霉素(Neomycin)抗性，可利用其氨苄青霉素抗性转化大肠杆菌后筛选阳性菌。而在转染哺乳动物细胞后，可使用G418 (ST081/ST081)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。G418和新霉素效果一致，但G418的细胞毒性更低。

➤ LTA即SV40大T抗原(SV40 large T antigen)，也称SV40gp6 large T antigen (*Macaca mulatta polyomavirus 1*)，由猿猴病毒40 (Simian virus 40, SV40)表达，全长708氨基酸，分子量为81.6kDa，是一种六聚体蛋白。当LTA单独表达时能诱导静止细胞的增殖和转化，可以诱导实验动物肿瘤的形成，为研究DNA复制和细胞转化提供了非常有用的模型[1-3]。

➤ pCMV-3X Flag-LTA质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
CMV promoter		235-818
3X Flag tag		901-966
SV40 large T antigen		985-3108
bGH poly(A) signal		3204-3428
f1 ori		3474-3902
SV40 promoter		3916-4246
Neomycin resistance gene		4313-5107
SV40 poly(A) signal		5281-5402
ori		5853-6441
Ampicillin resistance gene		6612-7577

➤ pCMV-3X Flag-LTA质粒(7608bp)的图谱如下：



➤ pCMV-3X Flag-LTA质粒的详细图谱如下：

CMV promoter

```
751 ACAACTCCGC CCCATTGACG CAAATGGGCG GTAGGCGTGT ACGGTGGGAG
    TGTTGAGGCG GGGTAACTGC GTTTACCCGC CATCCGCACA TGCCACCCTC
```

801 GTCTATATAA GCAGAGCTCT CTGGCTAACT AGAGAACCCA CTGCTTACTG  
CAGATATATT CGTCTCGAGA GACCGATTGA TCTCTTGGGT GACGAATGAC

851 GCTTATCGAA ATTAATACGA CTCACTATAG GGAGACCCAA GCTTATGGCC  
CGAATAGCTT TAATTATGCT GAGTGATATC CCTCTGGGT CGAATACGGG  
3X Flag tag

901 GACTACAAGG ACCACGACGG CGACTACAAG GACCACGACA TCGACTACAA  
CTGATGTTCC TGGTGCTGCC GCTGATGTTC CTGGTGCTGT AGCTGATGTT

951 GGACGACGAC GACAAGGGCG GCAGCGGCGG ATCCGATAAA GTTTTAAACA  
CCTGCTGCTG CTGTTCCCGC CGTCGCCGCC TAGGCTATTT CAAAATTTGT  
SV40 large T antigen

1001 GAGAGGAATC TTTGCAGCTA ATGGACCTTC TAGGTCTTGA AAGGAGTGCC  
CTCTCCTTAG AAACGTCGAT TACCTGGAAG ATCCAGAACT TTCCTCACGG

1051 TGGGGGAATA TTCCTCTGAT GAGAAAGGCA TATTTAAAA -----  
ACCCCTTAT AAGGAGACTA CTCTTTCCGT ATAAATTTT -----

3001 CCTCAGTCCT CACAGTCTGT TCATGATCAT AATCAGCCAT ACCACATTTG  
GGAGTCAGGA GTGTCAGACA AGTACTAGTA TTAGTCGGTA TGGTGTAAC

3051 TAGAGGTTTT ACTTGCTTTA AAAAACCTCC CACACCTCCC CCTGAACCTG  
ATCTCCAAA TGAACGAAAT TTTTGGAGG GTGTGGAGG GGAATTGGAC

3101 AAACATAACT CGAGGACTAC AAGGACGATG ATGACGCCTG ATAATCTAGA  
TTTGTATTGA GTCCTGATG TTCCTGCTAC TACTGCGGAC TATTAGATCT

➤ pCMV-3X Flag-LTA中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AccIII	Acc65I	AcvI	AfeI	AflII
AgeI	AjiI	AleI	Aor13HI	Aor51HI	AscI	AsiGI
AsiSI	Asp718I	AsuNHI	AxyI	BaeI	BanIII	BarI
BbrPI	BbvCI	BfrI	BlpI	BmgBI	BmtI	BoxI
Bpu1102I	Bsa29I	Bse21I	BseAI	BseCI	BshVI	BshTI
BsiWI	BsmBI	Bsp13I	Bsp1720I	BspDI	BspEI	BspOI
BspTI	BspXI	Bst98I	BstAFI	BstEII	BstPI	BstPAI
Bsu15I	Bsu36I	BsuTUI	BtrI	CciNI	CelII	Cfr42I
ClaI	CspAI	Eco32I	Eco47III	Eco72I	Eco81I	Eco91I
EcoO65I	EcoRI	EcoRV	Esp3I	FseI	FspAI	I-CeuI
I-PpoI	I-SceI	KflI	KpnI	Kpn2I	KspI	MauBI
MreI	MroI	MspCI	MssI	Nb.BbvCI	NheI	NotI
Nt.BbvCI	OliI	PacI	PalAI	PasI	Pfl23II	PI-PspI
PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI	PshAI
Psp5II	PspCI	PspEI	PspLI	PspPPI	PsrI	RgaI
RigI	SacII	SanDI	SbfI	SdaI	SfaAI	SfiI
Sfr303I	SgfI	SgrAI	SgrBI	SgsI	SmiI	SrfI
Sse8387I	SstII	SwaI	Vha464I	XcmI		

➤ pCMV-3X Flag-LTA中的单酶切位点包括:

AhdI	ApaI	AvrII	BamHI	BglII	Bpu10I	BsgI
BssHII	BstBI	BstXI	BstZ17I	DraIII	EagI	HpaI
KasI	MluI	MscI	NarI	NruI	PaeR7I	PciI
PflFI	PflMI	PluTI	PspOMI	PspXI	PvuI	RsrII
ScaI	SexAI	SfoI	SgrDI	SmaI	SnaBI	SpeI
StuI	TspMI	Tth111I	XbaI	XhoI	XmaI	

➤ pCMV-3X Flag-LTA质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

CMV-F primer (769-789): 5'-CGCAAATGGGCGGTAGGCGTG-3'

BGH-R primer (3198-3215): 5'-TAGAAGGCACAGTCGAGG-3'

➤ pCMV-3X Flag-LTA的全序列信息请参考碧云天网站上该质粒的信息。

➤ 在HEK293T细胞(人胚肾细胞)中共转pCMV-3X Flag-LTA和pCMV-HA-p53 (D3033), 经免疫共沉淀(Co-IP)实验验证, p53和LTA两种蛋白可以相互作用, 具体参考Flag&HA Co-IP阳性对照质粒对(D3043)。

**包装清单:**

产品编号	产品名称	包装
D3032-1μg	pCMV-3X Flag-LTA	1μg
D3032-100μg	pCMV-3X Flag-LTA	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。
- 本质粒仅经过测序、免疫沉淀和免疫共沉淀验证，未经过功能性验证。
- 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0.25μg/μl，共400μl。可以直接用于转染细胞。

#### 参考文献：

1. Ahuja D, Sáenz-Robles MT, Pipas JM. *Oncogene*. 2005. 24(52):7729-7745.
2. Xiao CY, Jans P, Jans DA. *FEBS Lett*. 1998. 440(3):297-301.
3. Xiao CY, Jans DA. *FEBS Lett*. 1998. 436(3):313-317.

#### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2115	BeyoMag™ Anti-Flag Magnetic Beads (Anti-Flag磁珠)	0.5/2ml
P2181	Flag标签蛋白免疫沉淀试剂盒(磁珠法)	20-100/100-500次
P2202	Flag标签蛋白免疫沉淀试剂盒(琼脂糖凝胶法)	20/100次
P2271	Anti-Flag Affinity Gel (Anti-Flag亲和凝胶)	0.5/2/10ml
P2282	Anti-Flag Affinity Gel (Anti-Flag亲和凝胶)	0.5/2/10ml
AF0036	FLAG Tag Rabbit Polyclonal Antibody	100μl
AF5051	Flag Tag Mouse Monoclonal Antibody	50μl
AF519	Flag抗体(小鼠单抗)	>40次
D3031	pCMV-3X Flag-p53	1/100μg
D3032	pCMV-3X Flag-LTA	1/100μg
D3033	pCMV-HA-p53	1/100μg
D3036	pCMV-Myc-LTA	1/100μg
D3041	Flag&Myc Co-IP阳性对照质粒对	各1/100μg
D3043	Flag&HA Co-IP阳性对照质粒对	各1/100μg
D3045	HA&Myc Co-IP阳性对照质粒对	各1/100μg

Version 2022.05.05