



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## pShuttle-CMV-C-Flag(腺病毒质粒)

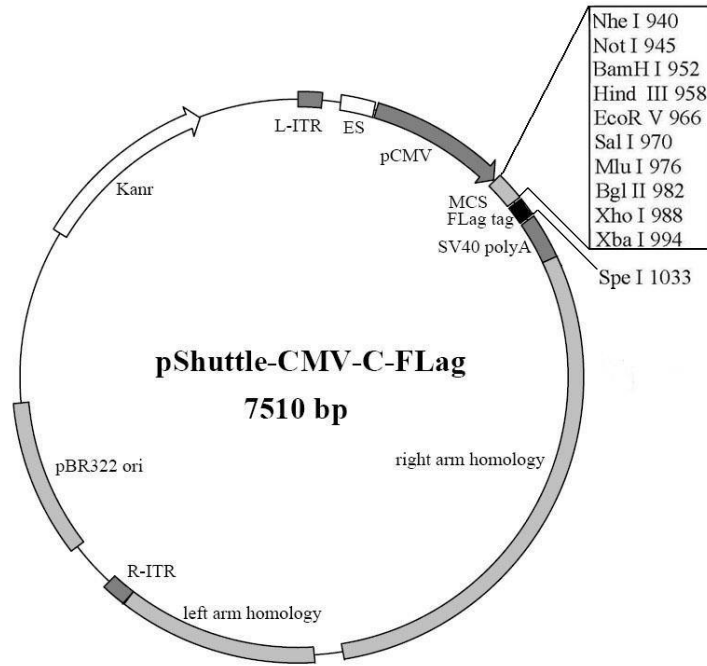
产品编号	产品名称	包装
D8119-1μg	pShuttle-CMV-C-Flag(腺病毒质粒)	1μg
D8119-100μg	pShuttle-CMV-C-Flag(腺病毒质粒)	100μg

### 产品简介:

- pShuttle-CMV-C-Flag是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达C端Flag tag(Flag标签)融合蛋白的重组腺病毒包装用的穿梭质粒。本穿梭质粒构建后,需要和预转染了pAdEasy-1质粒的BJ5183菌株(D8107)以及重组腺病毒包装细胞配合使用才能完成重组腺病毒的包装。
- pShuttle-CMV-C-Flag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'端含有一个可以编码Flag标签的序列,因此可以表达出含有Flag标签的融合蛋白,可以方便地使用抗Flag的抗体来识别目的蛋白,有利于目的蛋白检测和分离纯化。
- 本质粒为卡那霉素抗性。
- 重组腺病毒(Recombinant adenoviruses)是一种常见的用于在培养细胞或动物体内表达外源基因的重要工具。重组腺病毒具有感染宿主细胞范围广、感染不依赖细胞分裂、高滴度及目的基因表达水平高等特性。最常用的腺病毒载体是人类血清5型腺病毒。改造后的人类血清5型腺病毒,删除了在病毒装配过程中起关键作用的E1基因和非必须的能表达逃避宿主免疫的E3基因, E1和E3基因的删除使得重组腺病毒不能自我复制,同时给外源基因的插入提供了空间,最长可插入7.5kb的外源基因。从而提高了重组腺病毒的安全性及可操作性。再利用携带E1基因的AD-293、293A、HEK293等细胞作为包装细胞就可以完成重组腺病毒的包装。
- pShuttle系列的穿梭质粒携带外源目的基因,经过Pme I线性化,随后与腺病毒骨架质粒pAdEasy-1(D8106)共转化到大肠杆菌BJ5183中,或者转化到已经预转化了pAdEasy-1质粒的BJ5183菌株(D8107)中同源重组。BJ5183菌株表达recET基因,具有很高的基因同源重组(homologous recombination)活性,使带有目的基因的穿梭质粒与腺病毒骨架质粒pAdEasy-1通过末端反向重复序列同源重组,实现外源基因与腺病毒基因组的整合。将重组的携带外源基因的腺病毒质粒用Pac I线性化后转染到AD-293、293A、HEK293等重组腺病毒包装细胞中进行包装。从而制备获得高滴度、自我复制缺陷并且带有目的基因的重组腺病毒。
- 目的基因引入时不能含有Pme I及Pac I这两个酶切位点,如果含有该两个酶切位点的目的基因,需要对该位点进行突变方可进行基因操作。
- pShuttle-CMV-C-Flag质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
left inverted terminal repeat	1-103
encapsidation signal (ES)	183-331
CMV promoter	341-933
multiple cloning site	940-994
Flag tag	999-1025
SV40 polyA	1045-1251
Ad5 right arm homology	1256-3510
Ad5 left arm homology	3558-4441
right inverted terminal repeat	4442-4544
pBR322 origin	4752-5419
kanamycin resistance ORF	6228-7019

- pShuttle-CMV-C-Flag质粒的图谱如下:



➤ pShuttle-CMV-C-FLag的多克隆位点的详细图谱如下:

```

                                NheI NotI
901  AGAGCTGGTT TAGTGAACCG TCAGATCCGC TAGAGATCGC TAGCGGCCGC
    TCTCGACCAA ATCACTTGGC AGTCTAGGCG ATCTCTAGCG ATCGCCGGCG
        HindIII
    BamHI      EcoRV SalI   MluI   BglII XhoI   XbaI   D
951  GGATCCAAGC TTGATATCGT CGACACGCGT AGATCTCTCG AGTCTAGAGA
    CCTAGGTTTCG AACTATAGCA GCTGTGCGCA TCTAGAGAGC TCAGATCTCT
        FLag tag
        Y K D D D D K
1001 TTACAAGGAT GACGACGATA AGTAAACTAG AACTAGTACT AGATAACTGA
    AATGTTCCCTA CTGCTGCTAT TCATTTGATC TTGATCATGA TCTATTGACT
                                SpeI

```

➤ pShuttle-CMV-C-FLag中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pShuttle-CMV-C-FLag)包括:

Acc65I	AflIII	AgeI	AscI	Asp718
BlpI	BsiCI	BsiWI	BstBI	Bsu36I
ClaI	Eco72I	EcoNI	EspI	FseI
KpnI	NruI	PmlI	PvuI	SfiI

➤ pShuttle-CMV-C-FLag中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pShuttle-CMV-C-FLag once)包括:

BsrGI	T`GTAC, A	193	Hpa I	GTT AAC	1155
SnaBI	TAC GTA	679	PflM I	CCAN, NNN`NTGG	1933
NheI	G`CTAG, C	940	BstX I	CCAN, NNNN`NTGG	2372
NotI	GC`GGCC, GC	945	Bbs I	GAAGAC 8/12	3174
BamHI	G`GATC, C	952	Bbv II	GAAGAC 7/11	3175
HindIII	A`AGCT, T	958	Bst1107 I	GTA TAC	3528
EcoRV	GAT ATC	966	Xca I	GTA TAC	3528
SalI	G`TCGA, C	970	Pme I	GTTT AAAC	3549
MluI	A`CGCG, T	976	EcoR I	G`AATT, C	3554
BglII	A`GATC, T	982	Avr II	C`CTAG, G	4096
PaeR7I	C`TCGA, G	988	BspH I	T`CATG, A	5492
XhoI	C`TCGA, G	988	Psp1406 I	AA`CG, TT	5891
XbaI	T`CTAG, A	994	Rsr II	CG`GWC, CG	6897
SpeI	A`CTAG, T	1033	Dra III	CAC, NNN`GTG	7244
Sca I	AGT ACT	1038	Xmn I	GAANN NNTTC	7498

➤ pShuttle-CMV-C-FLag质粒中推荐的测序引物序列如下:

forward primer (888-907): 5'GGTCTATATAAGCAGAGCTG3'  
Reverse primer (1047-1069): 5'GTGGTATGGCTGATTATGATCAG 3'

➤ pShuttle-CMV-C-FLag的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

➤ 腺病毒包装的具体方法和步骤可以参考如下网页：

<https://www.beyotime.com/support/pShuttle.htm>

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D8119-1μg	pShuttle-CMV-C-Flag	1μg
D8119-100μg	pShuttle-CMV-C-Flag	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. pShuttle-CMV-C-FLag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，插入目的基因时注意与FLag不能发生移码突变。携带目的基因的质粒经过Pme I线性化，随后与腺病毒骨架质粒pAdEasy-1(D8106)共转化到大肠杆菌BJ5183中，或者转化到已经已经预转了pAdEasy-1质粒的BJ5183菌株(D8107)中进行同源重组。将重组的携带外源基因的腺病毒质粒用Pac I线性化后转染到AD-293、293A、HEK293等重组腺病毒包装细胞中进行包装。从而制备得高滴度、自我复制缺陷并且带有目的基因的重组腺病毒。

### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D8115-1μg	pShuttle-CMV-C-DsRed (腺病毒质粒，红色荧光)	1μg
D8115-100μg	pShuttle-CMV-C-DsRed (腺病毒质粒，红色荧光)	100μg
D8117-1μg	pShuttle-CMV-C-EGFP (腺病毒质粒，绿色荧光)	1μg
D8117-100μg	pShuttle-CMV-C-EGFP (腺病毒质粒，绿色荧光)	100μg
D8119-1μg	pShuttle-CMV-C-Flag (腺病毒质粒)	1μg
D8119-100μg	pShuttle-CMV-C-Flag (腺病毒质粒)	100μg
D8121-1μg	pShuttle-CMV-C-HA (腺病毒质粒)	1μg
D8121-100μg	pShuttle-CMV-C-HA (腺病毒质粒)	100μg
D8123-1μg	pShuttle-CMV-C-His (腺病毒质粒)	1μg
D8123-100μg	pShuttle-CMV-C-His (腺病毒质粒)	100μg
D8125-1μg	pShuttle-CMV-C-Myc (腺病毒质粒)	1μg
D8125-100μg	pShuttle-CMV-C-Myc (腺病毒质粒)	100μg
D8127-1μg	pShuttle-CMV-N-DsRed (腺病毒质粒，红色荧光)	1μg
D8127-100μg	pShuttle-CMV-N-DsRed (腺病毒质粒，红色荧光)	100μg
D8129-1μg	pShuttle-CMV-N-EGFP (腺病毒质粒，绿色荧光)	1μg
D8129-100μg	pShuttle-CMV-N-EGFP (腺病毒质粒，绿色荧光)	100μg
D8131-1μg	pShuttle-CMV-N-Flag (腺病毒质粒)	1μg
D8131-100μg	pShuttle-CMV-N-Flag (腺病毒质粒)	100μg
D8133-1μg	pShuttle-CMV-N-HA (腺病毒质粒)	1μg
D8133-100μg	pShuttle-CMV-N-HA (腺病毒质粒)	100μg
D8135-1μg	pShuttle-CMV-N-His (腺病毒质粒)	1μg
D8135-100μg	pShuttle-CMV-N-His (腺病毒质粒)	100μg
D8137-1μg	pShuttle-CMV-N-Myc (腺病毒质粒)	1μg
D8137-100μg	pShuttle-CMV-N-Myc (腺病毒质粒)	100μg
D8106-1μg	pAdEasy-1 (腺病毒骨架质粒)	1μg
D8106-100μg	pAdEasy-1 (腺病毒骨架质粒)	100μg
D8107	pAdEasy-1/BJ5183 (腺病毒重组配套菌)	200μl

D8202-1μg	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	1μg
D8202-100μg	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	100μg
D8215-1μg	pCMV-VSV-G (慢病毒包装用质粒)	1μg
D8215-100μg	pCMV-VSV-G (慢病毒包装用质粒)	100μg
D8216-1μg	pCAG-dR8.9 (慢病毒包装用质粒)	1μg
D8216-100μg	pCAG-dR8.9 (慢病毒包装用质粒)	100μg

Version 2022.12.1