



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-His (腺病毒质粒)

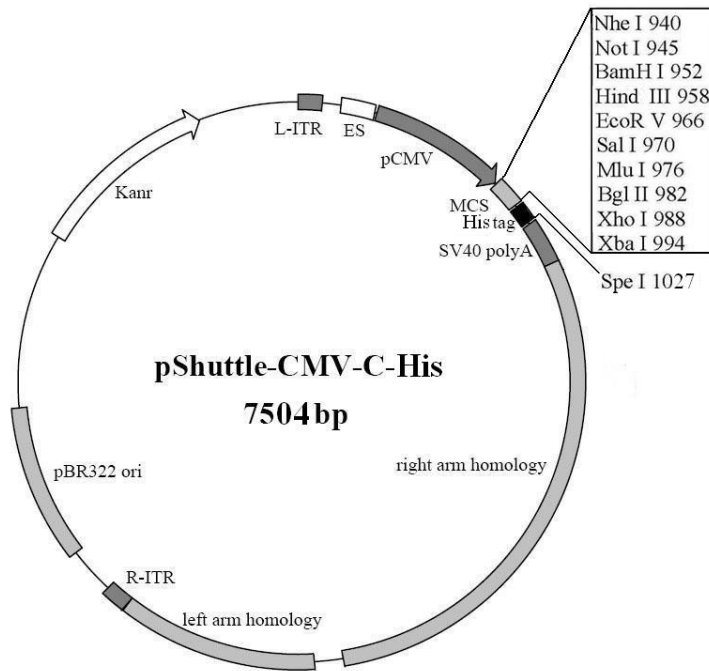
产品编号	产品名称	包装
D8123-1 μ g	pShuttle-CMV-C-His (腺病毒质粒)	1 μ g
D8123-100 μ g	pShuttle-CMV-C-His (腺病毒质粒)	100 μ g

产品简介:

- pShuttle-CMV-C-His是碧云天自行研发的用于构建表达C端His tag(His 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-His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His标签的序列,因此可以表达出含有His标签的融合蛋白,可以方便地使用抗His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和可操作性。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-His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
His tag		999-1025
SV40 polyA		1024-1251
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-His质粒的图谱如下:



➤ pShuttle-CMV-C-His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  H
951  GGATCCAAGC TTGATATCGT CGACACGCGT AGATCTCTCG AGTCTAGACA
    CCTAGGTTTCG AACTATAGCA GCTGTGCGCA TCTAGAGAGC TCAGATCTGT
        His tag
        H H H H H
1001 TCATCACCAT CACCATTAAG CTAGAACTAG TACTAGATAA CTGATCATAA
    AGTAGTGTA GTGGTAATTT GATCTTGATC ATGATCTATT GACTAGTATT

```

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

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

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

BsrGI	T`GTAC, A	193	HpaI	GTT AAC	1149
SnaBI	TAC GTA	679	PflMI	CCAN, NNN`NTGG	1927
NheI	G`CTAG, C	940	BstXI	CCAN, NNNN`NTGG	2366
NotI	GC`GGCC, GC	945	BbsI	GAAGAC 8/12	3168
BamHI	G`GATC, C	952	BbvII	GAAGAC 7/11	3169
HindIII	A`AGCT, T	958	Bst1107I	GTA TAC	3522
EcoRV	GAT ATC	966	XcaI	GTA TAC	3522
SalI	G`TCGA, C	970	PmeI	GTTT AAAC	3543
MluI	A`CGCG, T	976	EcoRI	G`AATT, C	3548
BglI	A`GATC, T	982	AvrII	C`CTAG, G	4090
PaeR7I	C`TCGA, G	988	BspHI	T`CATG, A	5486
XhoI	C`TCGA, G	988	Psp1406I	AA`CG, TT	5885
XbaI	T`CTA G, A	994	RsrII	CG`GWC, CG	6891
SpeI	A`CTAG, T	1027	DraIII	CAC, NNN`GTG	7238
ScaI	AGT ACT	1032	XmnI	GAANN NNTTC	7492

➤ pShuttle-CMV-C-His质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

forward primer (888-907): 5'GGTCTATATAAGCAGAGCTG3'

Reverse primer (1041-1063): 5'GTGGTATGGCTGATTATGATCAG 3'

- pShuttle-CMV-C-His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
D8123-1μg	pShuttle-CMV-C-His	1μg
D8123-100μg	pShuttle-CMV-C-His	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. pShuttle-CMV-C-His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His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 2022.12.01