



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-N-Flag(腺病毒质粒)

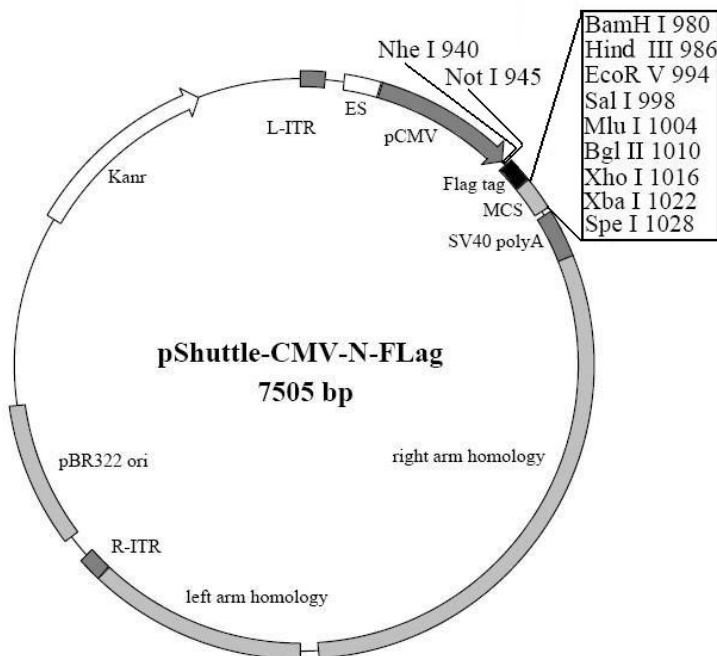
产品编号	产品名称	包装
D8131-1μg	pShuttle-CMV-N-Flag(腺病毒质粒)	1μg
D8131-100μg	pShuttle-CMV-N-Flag(腺病毒质粒)	100μg

产品简介:

- pShuttle-CMV-N-Flag是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达N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-N-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5'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-N-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
FLag tag		955-978
multiple cloning site		980-1028
SV40 polyA		1040-1251
Ad5 right arm homology		1256-3511
Ad5 left arm homology		3558-4441
right inverted terminal repeat		4442-4544
pBR322 origin		4752-5419
kanamycin resistance ORF		6228-7019

- pShuttle-CMV-N-Flag质粒的图谱如下:



➤ pShuttle-CMV-N-FLag的多克隆位点的详细图谱如下:

			Not I				
			Nhe I	Kozak序列			
901	AGAGCTGGTT TAGTGAACCG TCAGATCCGC TAGAGATCGC	TAGCGG	CCGC				
	TCTCGACCAA ATCACTTGGC AGTCTAGGCG ATCTCTAGCG	ATCGCC	GGCG				
			Flag tag				HindIII
	D Y K D D D D K	BamHI	EcoRV		Sali		
951	CATG GATTAC AAGGATGACG ACGATAAGGG ATCCAAGCTT	GATATCGTGC					
	GTAC CTAATG TTCCTACTGC TGCTATTCCC TAGGTTCGAA	CTATAGCAGC					
			MluI	BglIII	XhoI	XbaI SpeI	
1001	ACACGCGTAG ATCTCTCGAG TCTAGAATA GTACTAGATA	ACTGATCATA					
	TGTGCGCATC TAGAGAGCTC AGATCTTGAT CATGATCTAT	TGACTAGTAT					

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

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

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

BsrGI	T`GTAC, A	193	HpaI	GTT AAC	1150
SnaBI	TAC GTA	679	PflMI	CCAN, NNN`NTGG	1928
NheI	G`CTAG, C	940	BstXI	CCAN, NNNN`NTGG	2367
NotI	GC`GGCC, GC	945	BbsI	GAAGAC 8/12	3169
BamHI	G`GATC, C	980	BbvII	GAAGAC 7/11	3170
HindIII	A`AGCT, T	986	Bst1107I	GTA TAC	3523
EcoRV	GAT ATC	994	XcaI	GTA TAC	3523
SalI	G`TCGA, C	998	PmeI	GTTT AAAC	3544
MluI	A`CGCG, T	1004	EcoRI	G`AATT, C	3549
BglII	A`GATC, T	1010	AvrII	C`CTAG, G	4091
PaeR7I	C`TCGA, G	1016	BspHI	T`CATG, A	5487
XhoI	C`TCGA, G	1016	Psp1406I	AA`CG, TT	5886
XbaI	T`CTAG, A	1022	RsrII	CG`GWC, CG	6892
SpeI	A`CTAG, T	1028	DraIII	CAC, NNN`GTG	7239
ScaI	AGT ACT	1033	XmnI	GAANN NNTTC	7493

➤ pShuttle-CMV-N-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 (1042-1064): 5'GTGGTATGGCTGATTATGATCAG3'

➤ pShuttle-CMV-N-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:

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D8131-1 μ g	pShuttle-CMV-N-FLag	1 μ g
D8131-100 μ g	pShuttle-CMV-N-FLag	100 μ g
—	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1 μ g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。
- pShuttle-CMV-N-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
D8115-1 μ g	pShuttle-CMV-C-DsRed (腺病毒质粒, 红色荧光)	1 μ g
D8115-100 μ g	pShuttle-CMV-C-DsRed (腺病毒质粒, 红色荧光)	100 μ g
D8117-1 μ g	pShuttle-CMV-C-EGFP (腺病毒质粒, 绿色荧光)	1 μ g
D8117-100 μ g	pShuttle-CMV-C-EGFP (腺病毒质粒, 绿色荧光)	100 μ g
D8119-1 μ g	pShuttle-CMV-C-Flag (腺病毒质粒)	1 μ g
D8119-100 μ g	pShuttle-CMV-C-Flag (腺病毒质粒)	100 μ g
D8121-1 μ g	pShuttle-CMV-C-HA (腺病毒质粒)	1 μ g
D8121-100 μ g	pShuttle-CMV-C-HA (腺病毒质粒)	100 μ g
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
D8125-1 μ g	pShuttle-CMV-C-Myc (腺病毒质粒)	1 μ g
D8125-100 μ g	pShuttle-CMV-C-Myc (腺病毒质粒)	100 μ g
D8127-1 μ g	pShuttle-CMV-N-DsRed (腺病毒质粒, 红色荧光)	1 μ g
D8127-100 μ g	pShuttle-CMV-N-DsRed (腺病毒质粒, 红色荧光)	100 μ g
D8129-1 μ g	pShuttle-CMV-N-EGFP (腺病毒质粒, 绿色荧光)	1 μ g
D8129-100 μ g	pShuttle-CMV-N-EGFP (腺病毒质粒, 绿色荧光)	100 μ g
D8131-1 μ g	pShuttle-CMV-N-Flag (腺病毒质粒)	1 μ g
D8131-100 μ g	pShuttle-CMV-N-Flag (腺病毒质粒)	100 μ g
D8133-1 μ g	pShuttle-CMV-N-HA (腺病毒质粒)	1 μ g
D8133-100 μ g	pShuttle-CMV-N-HA (腺病毒质粒)	100 μ g
D8135-1 μ g	pShuttle-CMV-N-His (腺病毒质粒)	1 μ g
D8135-100 μ g	pShuttle-CMV-N-His (腺病毒质粒)	100 μ g
D8137-1 μ g	pShuttle-CMV-N-Myc (腺病毒质粒)	1 μ g
D8137-100 μ g	pShuttle-CMV-N-Myc (腺病毒质粒)	100 μ g
D8106-1 μ g	pAdEasy-1 (腺病毒骨架质粒)	1 μ g
D8106-100 μ g	pAdEasy-1 (腺病毒骨架质粒)	100 μ g
D8107	pAdEasy-1/BJ5183 (腺病毒重组配套菌)	200 μ l
D8202-1 μ g	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	1 μ g
D8202-100 μ g	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	100 μ g

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 2022.11.30