

## pCMV-C-HA

产品编号	产品名称	包装
D2639-1μg	pCMV-C-HA	1μg
D2639-100μg	pCMV-C-HA	100μg

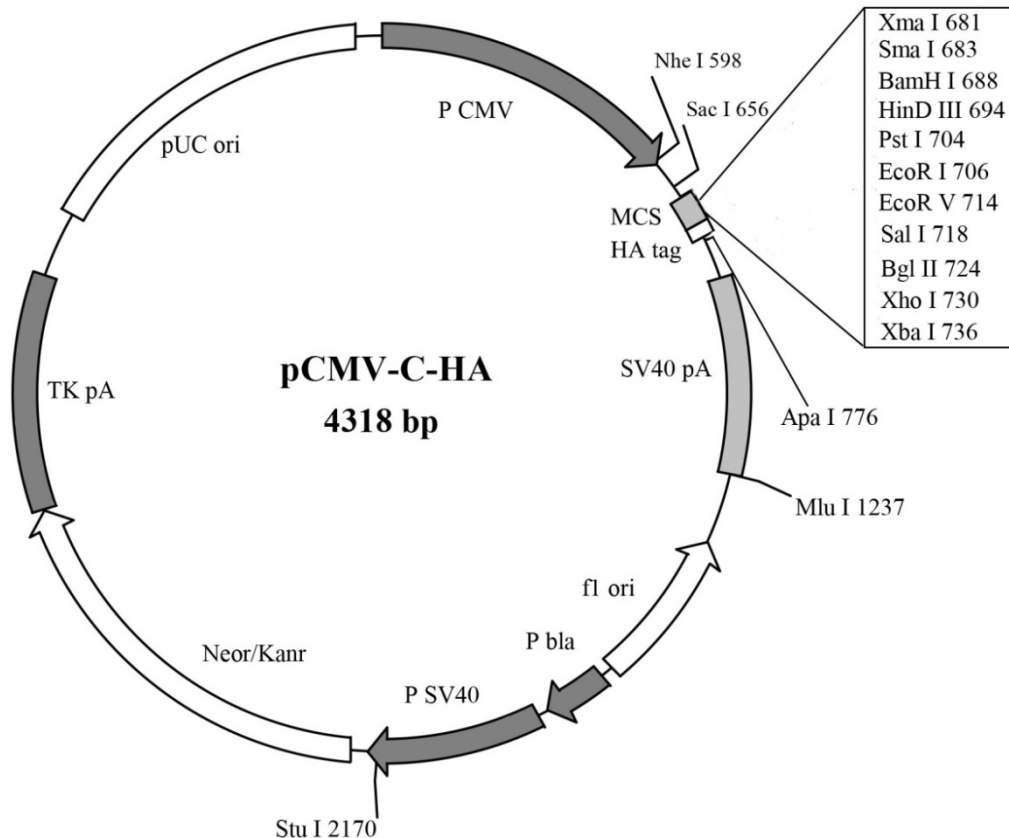
### 产品简介:

➤ pCMV-C-HA是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达C端与HA tag (HA标签)融合的目的蛋白的表达质粒。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'端含有一个可以编码HA标签的序列，因此可以表达出含有HA标签的融合蛋白，可以方便地使用抗HA的抗体来识别目的蛋白，有利于目的蛋白检测和分离纯化。质粒为卡那霉素抗性。转染细胞后，可使用G418筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。

➤ pCMV-C-HA质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
CMV promoter		1-602
T3 promoter and T3 primer binding site		620-639
multiple cloning site		680-740
c-HA tag		741-767
T7 promoter and T7 primer binding site		820-841
SV40 polyA signal		853-1236
f1 origin of ss-DNA replication		1374-1678
bla promoter		1703-1827
SV40 promoter		1847-2185
neomycin/kanamycin resistance ORF		2220-3011
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal		3012-3470
pUC origin		3599-4266

➤ pCMV-C-HA质粒的图谱如下:



➤ pCMV-C-HA的多克隆位点的详细图谱如下:

```

                XmaI                PstI
                Small  BamHI  HindIII
SacI
651 GAGCTCCACC GCGGTGGCGG CCGCTCTAGC CCGGGCGGAT CCAAGCTTCT
    CTCGAGGTGG CGCCACCGCC GGCGAGATCG GGCCCGCCTA GGTTCGAAGA
    
```

```

                                HA
                EcoRI  EcoRV  SalI   BglIII  XhoI   XbaI   Y P Y D
701 GCAGGAATTC GATATCGTCG ACAGATCTCT CGAGTCTAGA TACCCATACG
    CGTCCTTAAG CTATAGCAGC TGTCTAGAGA GCTCAGATCT ATGGGTATGC
    
```

```

tag
    V P D Y A
751 ATGTTCCAGA TTACGCTTAA GGGCCCGGTA CCTTAATTAA TTAAGGTACC
    TACAAGGTCT AATGCGAATT CCCGGGCCAT GGAATTAATT AATTCCATGG
    
```

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

```

Age I      Ahd I      Asc I      Bbs I      Bbv II     Blp I      Bsg I
BsiW I     BsmB I     BspM II    BsrG I     BssH II    Bst1107 I  BstE II
Ear I      Eco47 III  Eco72 I    EcoN I     Esp I      Fse I      Nru I
PflM I     Pme I      Pml I      PpuM I     Psp1406 I  Sap I      Sca I
Spe I      Spl I
    
```

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

Nde I	CA`TA, TG	241	Pvu I	CG, AT`CG	854
SnaB I	TAC GTA	347	Bcl I	T`GATC, A	1008
Nhe I	G`CTAG, C	598	Mun I	C`AATT, G	1101
Sac I	G, AGCT`C	656	Hpa I	GTT AAC	1114
Sac II	CC, GC`GG	663	Mlu I	A`CGCG, T	1237
BstX I	CCAN, NNNN`NTGG	664	Dra III	CAC, NNN`GTG	1467
Not I	GC`GGCC, GC	669	Sfi I	GGCCN, NNN`NGGCC	2124
PspA I	C`CCGG, G	681	BseR I	GAGGAG 16/14	2167
Xma I	C`CCGG, G	681	Stu I	AGG CCT	2170
Srf I	GCCC GGGC	683	Cla I	AT`CG, AT	2189
Sma I	CCC GGG	683	Kas I	G`GCGC, C	2348
BamH I	G`GATC, C	688	Nar I	GG`CG, CC	2349
HinD III	A`AGCT, T	694	Ehe I	GGC GCC	2350
Pst I	C, TGCA`G	704	Bbe I	G, GCGC`C	2352
EcoR I	G`AATT, C	706	Msc I	TGG CCA	2431
EcoR V	GAT ATC	714	Tth111 I	GACN`N, NGTC	2467
Sal I	G`TCGA, C	718	BsrD I	GCAATG, 8	2582
Acc I	GT`MK, AC	719	Bsp1286 I	G, DGCH`C	2652
Bgl II	A`GATC, T	724	Rsr II	CG`GWC, CG	2865
Paer7 I	C`TCGA, G	730	BsiC I	TT`CG, AA	3031
Xho I	C`TCGA, G	730	BstB I	TT`CG, AA	3031
Xba I	T`CTAG, A	736	Bsa I	GGTCTC 7/11	3338
Afl II	C`TTAA, G	767	HgiE II	ACCNNNNNNGGT-1/13	3678
Bsp120 I	G`GGCC, C	772	ApaL I	G`TGCA, C	3953
Apa I	G, GGCC`C	776			

➤ pCMV-C-HA质粒中对于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 (620-639): 5' AATTAACCCTCACTAAAGGG 3'

T7 primer (820-841): 5' GTAATACGACTCACTATAGGGC 3'

➤ pCMV-C-HA的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2639-1µg	pCMV-C-HA	1µg
D2639-100µg	pCMV-C-HA	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. pCMV-C-HA质粒在其多克隆位点适当酶切后可以插入待表达的基因，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。

## 使用本产品的文献:

1. Xing J, Wang S, Lin R, Mossman KL, Zheng C. Herpes simplex virus 1 tegument protein US11 down modulates the RLR signaling pathway via direct interaction with RIG-I and MDA-5. *J Virol.* 2012 Apr;86(7):3528-40
2. Xing J, Ni L, Wang S, Wang K, Lin R, Zheng C. HSV-1 encoded tegument protein VP16 abrogates the production of interferon  $\beta$  by inhibiting NF- $\kappa$ B activation and blocking IRF-3 to recruit its coactivator CBP. *J Virol.* 2013 Sep;87(17):9788-801.
3. Cai M, Li M, Wang K, Wang S, Lu Q, Yan J, Mossman KL, Lin R, Zheng C. The herpes simplex virus 1-encoded envelope glycoprotein B activates NF- $\kappa$ B through the Toll-like receptor 2 and MyD88/IRAF6-dependent signaling pathway. *PLoS One.* 2013;8(1):e54586.
4. Qiu Y, Ding Y, Zou L, Tan Z, Liu T, Fu X, Xu W. Divergent roles of amino acid residues inside and outside the BB loop affect human Toll-like receptor (TLR)2/2, TLR2/1 and TLR2/6 responsiveness. *PLoS One.* 2013 Apr 23;8(4): e61508.
5. Zhang J, Wang S, Wang K, Zheng C. Herpes simplex virus 1 DNA polymerase processivity factor UL42 inhibits TNF- $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B activation by interacting with p65/RelA and p50/NF- $\kappa$ B1. *Med Microbiol Immunol.* 2013 Aug;202(4):313-25.
6. Cui J, Duan B, Zhao X, Chen Y, Sun S, Deng W, Zhang Y, Du J, Chen Y, Gu L. MBD3 mediates epigenetic regulation on EPAS1 promoter in cancer. *Tumour Biol.* 2016 Oct;37(10):13455-13467.
7. Duan B, Cui J, Sun S, Zheng J, Zhang Y, Ye B, Chen Y, Deng W, Du J, Zhu Y, Chen Y, Gu L. EGF-stimulated activation of Rab35 regulates RUSC2-GIT2 complex formation to stabilize GIT2 during directional lung cancer cell migration. *Cancer Lett.* 2016 Aug 28;379(1):70-83.
8. Deng W, Wang Y, Gu L, Duan B, Cui J, Zhang Y, Chen Y, Sun S, Dong J, Du J. MICAL1 controls cell invasive phenotype via regulating oxidative stress in breast cancer cells. *BMC Cancer.* 2016 Jul 18;16:489.
9. Deng W, Gu L, Li X, Zheng J, Zhang Y, Duan B, Cui J, Dong J, Du J. CD24 associates with EGFR and supports EGF/EGFR signaling via RhoA in gastric cancer cells. *J Transl Med.* 2016 Feb 1;14:32.
10. Hu W, Zhang S, Shen Y, Yang Q. Epidermal growth factor receptor is a co-factor for transmissible gastroenteritis virus entry. *Virology.* 2018 Aug;521:33-43
11. Fei LR, Huang WJ, Wang Y, Lei L, Li ZH, Zheng YW, Wang Z, Yang MQ, Liu CC, Xu HT. PRDM16 functions as a suppressor of lung adenocarcinoma metastasis. *J EXP CLIN CANC RES.* 2019 Jan 25;38(1):35
12. Zhao Y, Fu Y, Sun Y, Zou M, Peng X. Transcriptional Regulation of gga-miR-451 by AhR:Arnt in *Mycoplasma gallisepticum* (HS Strain) Infection. *Int J Mol Sci.* 2019 Jun 24;20(12). pii: E3087

Version2021.09.01