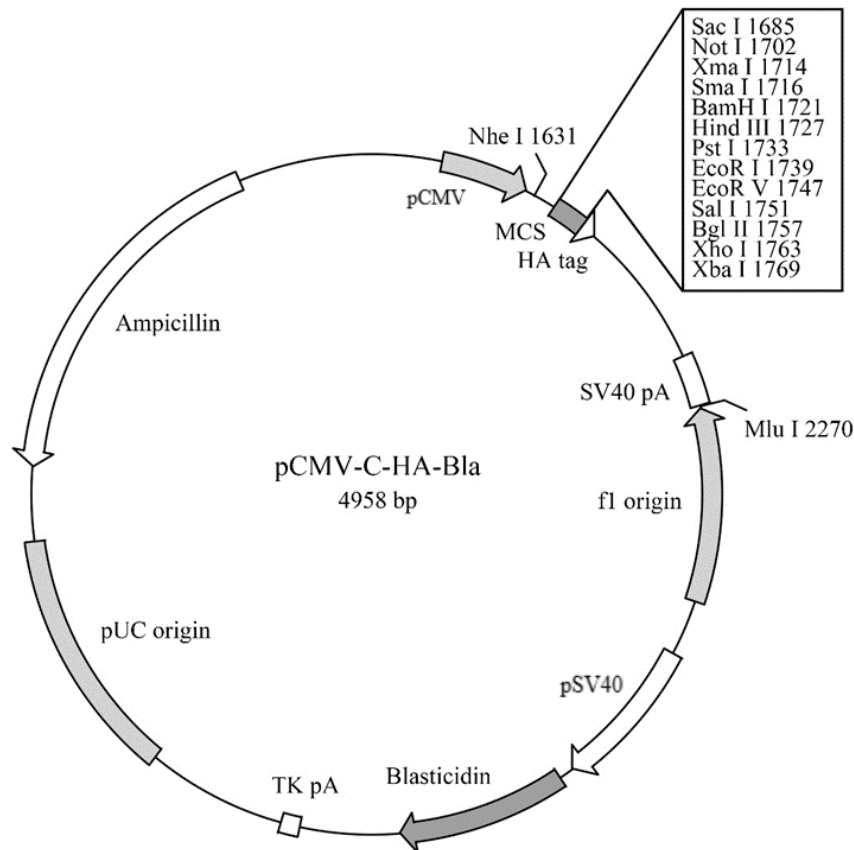


pCMV-C-HA-Bla

产品编号	产品名称	包装
D2775-1μg	pCMV-C-HA-Bla	1μg
D2775-100μg	pCMV-C-HA-Bla	100μg

产品简介:

- pCMV-C-HA-Bla是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达C端带有HA标签(HA Tag)的目的蛋白的表达质粒。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；在多克隆位点的3'端含有一个编码HA标签的序列，可以表达带有HA标签的融合蛋白，因此可以方便地利用抗HA的抗体来识别目的蛋白，从而有利于目的蛋白检测和分离纯化。
- pCMV-C-HA-Bla质粒为氨苄青霉素抗性和灭瘟素S (Blasticidin S)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，可利用其Blasticidin S抗性筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。Blasticidin S (ST018)可以从碧云天购买。
- Blasticidin S是来源于灰色链霉菌(*Streptomyces griseochromogenes*)的一种核苷类抗生素，中文名为灭瘟素S、杀稻瘟菌素S或稻瘟散。Blasticidin S特异性地抑制原核细胞或真核细胞的蛋白质合成，从而杀死细胞。Blasticidin S抗性基因(*bsr/BSD/bls*)所编码的Blasticidin S脱氨酶可以催化Blasticidin S发生脱氨基反应生成对细胞无毒性的Blasticidin S脱氨羟基化衍生物，从而使细胞对Blasticidin S产生抗性。因此，Blasticidin S可用于筛选携带*bsr/BSD/bls*基因(常标记为*bsr'*/*bsd'*/*Blast'*)质粒的哺乳动物稳定转染细胞株，也可用于大肠杆菌等原核细胞的筛选。
- Blasticidin S具有快速而强效的作用模式，通常可在不到一周的时间内即可筛选到具有Blasticidin S抗性的稳定哺乳动物细胞系。工作浓度范围1-50μg/ml，通常建议使用10μg/ml的浓度进行稳定哺乳动物细胞株的筛选，实际使用时应针对不同的细胞系测试Blasticidin S的浓度梯度，以确定最佳使用浓度。
- pCMV-C-HA-Bla质粒(4958bp)的图谱如下：



- pCMV-C-HA-Bla质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
Ampicillin resistance	ORF	63-923

CMV promoter	1405-1608
T3 promoter and T3 primer binding site	1654-1672
HA tag	1775-1801
Multiple cloning site (SacI-XbaI)	1685-1774
T7 promoter and T7 primer binding site	1856-1874
SV40 polyA signal	2148-2269
f1 origin of ss-DNA replication	2276-2731
SV40 promoter	2864-3221
Blasticidin resistance ORF	3256-3654
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	3886-3933
pUC origin	4262-4850

➤ pCMV-C-HA-Bla的多克隆位点的详细图谱如下:

```

                XmaI                PstI
                SacI                NotI                SmaI                BamHI                HindIII
1685 GAGCTCCACC GCGGTGGCGG CCGCTCTAGC CCGGGCGGAT CCAAGCTTCT
      CTCGAGGTGG CGCCACCGCC GCGGAGATCG GGCCCGCCTA GGTTCGAAGA

                HA tag
                EcoRI                EcoRV                SalI                BglII                XhoI                XbaI                Y P Y
1735 GCAGGAATTC GATATCGTCG ACAGATCTCT CGAGTCTAGA TACCCATACG
      CGTCCTTAAG CTATAGCAGC TGTCTAGAGA GCTCAGATCT ATGGGTATGC

      D V P D Y A
1785 ATGTTCCAGA TTACGCTTAA GGGCCCGGTA CCTTAATTAA TTAAGGTACC
      TACAAGGTCT AATGCGAATT CCCGGCCAT GGAATTAATT AATCCATGG

```

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

Afe I	Age I	Asc I	AsiS I	Bae I	BbvC I
BmgB I	Bpu10 I	BsiW I	BsmB I	BspE I	BspQ I
BsrG I	BssH II	BstE II	BstZ17 I	EcoN I	Esp3 I
Fse I	Kas I	Nar I	PflF I	PflM I	PluT I
Pme I	Pml I	PshA I	PspX I	Rsr II	Sap I
Sbf I	Sfo I	SgrA I	Spe I	Swa I	Tth111 I
Xcm I					

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

AccI	GT`MK,AC	1752	HpaI	GTT AAC	2147
AflII	C`TTAA,G	1800	MfeI	C`AATT,G	2134
AhdI	GACNN,N`NNGTC	135	MluI	A`CGCG,T	2270
AleI	CACNN NNGTG	1695	MscI	TGG CCA	3259
ApaI	G,GGCC`C	1805	NdeI	CA`TA,TG	1274
BamHI	G`GATC,C	1721	NheI	G`CTAG,C	1631
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	3341	NotI	GC`GGCC,GC	1702
BcgI	NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN`	639	NruI	TCG CGA	3487
BclI	T`GATC,A	2041	Paer7I	C`TCGA,G	1763
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	3706	PciI	A`CATG,T	4906
BglII	A`GATC,T	1757	PpuMI	RG`GWC,CY	3415
BlpI	GC`TNA,GC	3651	PspOMI	G`GGCC,C	1805
BmtI	G,CTAG`C	1631	PstI	C,TGCA`G	1733
BsaXI	NNN`(N) ₉ AC(N) ₅ CTCC(N) ₇ ,NNN`	2431	SacI	G,AGCT`C	1685
BseRI	GAGGAG(N) ₈ ,NN`	3200	SacII	CC,GC`GG	1694
BsgI	GTGCAG(N) ₁₄ ,NN`	3441	SalI	G`TCGA,C	1751
BspDI	AT`CG,AT	3224	ScaI	AGT ACT	616
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	3706	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3156
BstBI	TT`CG,AA	3670	SmaI	CCC GGG	1716
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1693	SnaBI	TAC GTA	1380
ClaI	AT`CG,AT	3224	SrfI	GCCC GGGC	1716
DraIII	CAC,NNN`GTG	2497	StuI	AGG CCT	3205

EcoRI	CTCTTCN`NNN,	931	TspMI	C`CCGG,G	1714
Eco53kI	GAG CTC	1687	XbaI	T`CTAG,A	1769
EcoRI	G`AATT,C	1739	XhoI	C`TCGA,G	1763
EcoRV	GAT ATC	1747	XmaI	C`CCGG,G	1714
HindIII	A`AGCT,T	1727	XmnI	GAANN NNTTC	735

➤ pCMV-C-HA-Bla质粒中对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 (1654-1672): 5' AATTAACCCTCACTAAAGG 3'

T7 primer (1856-1874): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'

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

➤ 不同真核表达质粒的比较和选择，以及标签和抗性的考虑可以参考如下网页：

<https://www.beyotime.com/goods.do?method=lcode&lcode=001001001004>

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D2775-1μg	pCMV-C-HA-Bla	1μg
D2775-100μg	pCMV-C-HA-Bla	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-Bla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，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。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
ST018-10mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg
ST018-1ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×1ml
ST018-50mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	50mg
ST018-5ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×5ml
D2771-1μg	pCMV-N-Flag-Bla	1μg
D2771-100μg	pCMV-N-Flag-Bla	100μg
D2772-1μg	pCMV-N-HA-Bla	1μg
D2772-100μg	pCMV-N-HA-Bla	100μg
D2773-1μg	pCMV-N-Myc-Bla	1μg
D2773-100μg	pCMV-N-Myc-Bla	100μg
D2774-1μg	pCMV-C-Flag-Bla	1μg
D2774-100μg	pCMV-C-Flag-Bla	100μg
D2775-1μg	pCMV-C-HA-Bla	1μg
D2775-100μg	pCMV-C-HA-Bla	100μg
D2776-1μg	pCMV-C-Myc-Bla	1μg
D2776-100μg	pCMV-C-Myc-Bla	100μg
D2777-1μg	pCMV-N-Flag-Hyg	1μg
D2777-100μg	pCMV-N-Flag-Hyg	100μg
D2778-1μg	pCMV-N-HA-Hyg	1μg
D2778-100μg	pCMV-N-HA-Hyg	100μg
D2779-1μg	pCMV-N-Myc-Hyg	1μg

D2779-100µg	pCMV-N-Myc-Hyg	100µg
D2780-1µg	pCMV-C-Flag-Hyg	1µg
D2780-100µg	pCMV-C-Flag-Hyg	100µg
D2781-1µg	pCMV-C-HA-Hyg	1µg
D2781-100µg	pCMV-C-HA-Hyg	100µg
D2782-1µg	pCMV-C-Myc-Hyg	1µg
D2782-100µg	pCMV-C-Myc-Hyg	100µg
D2783-1µg	pCMV-N-Flag-Zeo	1µg
D2783-100µg	pCMV-N-Flag-Zeo	100µg
D2784-1µg	pCMV-N-HA-Zeo	1µg
D2784-100µg	pCMV-N-HA-Zeo	100µg
D2785-1µg	pCMV-N-Myc-Zeo	1µg
D2785-100µg	pCMV-N-Myc-Zeo	100µg
D2786-1µg	pCMV-C-Flag-Zeo	1µg
D2786-100µg	pCMV-C-Flag-Zeo	100µg
D2787-1µg	pCMV-C-HA-Zeo	1µg
D2787-100µg	pCMV-C-HA-Zeo	100µg
D2788-1µg	pCMV-C-Myc-Zeo	1µg
D2788-100µg	pCMV-C-Myc-Zeo	100µg
D2789-1µg	pCMV-N-Flag-Pur	1µg
D2789-100µg	pCMV-N-Flag-Pur	100µg
D2790-1µg	pCMV-N-HA-Pur	1µg
D2790-100µg	pCMV-N-HA-Pur	100µg
D2791-1µg	pCMV-N-Myc-Pur	1µg
D2791-100µg	pCMV-N-Myc-Pur	100µg
D2792-1µg	pCMV-C-Flag-Pur	1µg
D2792-100µg	pCMV-C-Flag-Pur	100µg
D2793-1µg	pCMV-C-HA-Pur	1µg
D2793-100µg	pCMV-C-HA-Pur	100µg
D2794-1µg	pCMV-C-Myc-Pur	1µg
D2794-100µg	pCMV-C-Myc-Pur	100µg
D2632-1µg	pCMV-C-Flag	1µg
D2632-100µg	pCMV-C-Flag	100µg
D2639-1µg	pCMV-C-HA	1µg
D2639-100µg	pCMV-C-HA	100µg
D2650-1µg	pCMV-C-His	1µg
D2650-100µg	pCMV-C-His	100µg
D2672-1µg	pCMV-C-Myc	1µg
D2672-100µg	pCMV-C-Myc	100µg
D2722-1µg	pCMV-N-Flag	1µg
D2722-100µg	pCMV-N-Flag	100µg
D2733-1µg	pCMV-N-HA	1µg
D2733-100µg	pCMV-N-HA	100µg
D2737-1µg	pCMV-N-His	1µg
D2737-100µg	pCMV-N-His	100µg
D2756-1µg	pCMV-N-Myc	1µg
D2756-100µg	pCMV-N-Myc	100µg

Version 2020.11.25