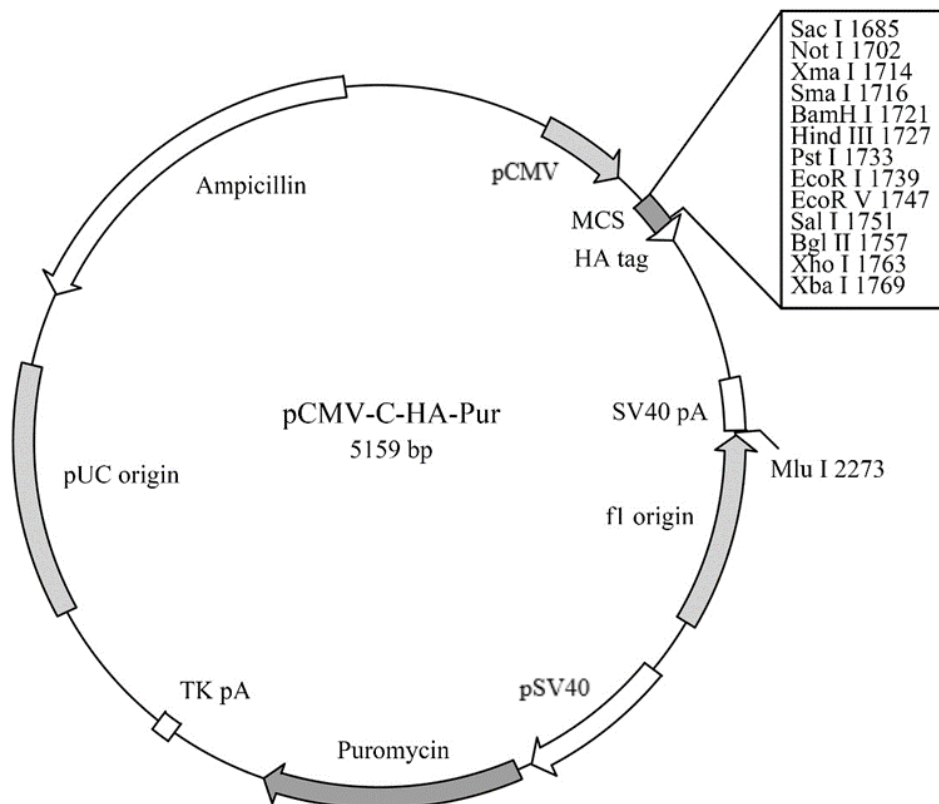


## pCMV-C-HA-Pur

| 产品编号        | 产品名称          | 包装    |
|-------------|---------------|-------|
| D2793-1μg   | pCMV-C-HA-Pur | 1μg   |
| D2793-100μg | pCMV-C-HA-Pur | 100μg |

### 产品简介:

- pCMV-C-HA-Pur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标签的目的蛋白的表达质粒。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，可以表达含有HA标签的融合蛋白，因此可以方便地使用抗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-Pur质粒为氨苄青霉素抗性和嘌呤霉素(Puromycin)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Puromycin抗性筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。Puromycin (ST551)可以从碧云天购买。
- Puromycin是来源于白黑链霉菌的一种氨基苷类抗生素，可通过打乱核糖体上的肽转运，造成翻译过程中不成熟终止，从而抑制蛋白质合成，抑制或杀死细胞。链霉菌(*Streptomyces alboniger*)来源的*pac*基因所编码的嘌呤霉素N-乙酰转移酶 (Puromycin N-acetyl-transferase)可以催化Puromycin发生乙酰化修饰而失活，使细胞对Puromycin产生抗性。因此，Puromycin可用来筛选成功转染携带Puromycin抗性基因质粒的原核或真核细胞。
- Puromycin是一种强效翻译抑制剂，作用迅速。一般2天内可以杀死99%的不表达*pac*基因的细胞，通常可在不到一周的时间内即可筛选到具有Puromycin抗性的稳定哺乳动物细胞系。推荐工作浓度范围为0.5-5μg/ml，实际使用时应针对不同的细胞系测试Puromycin的浓度梯度，以确定最佳使用浓度。
- pCMV-C-HA-Pur质粒(5159bp)的图谱如下:



- pCMV-C-HA-Pur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 |
| Puromycin resistance ORF               | 3256-3855 |
| HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal | 4087-4134 |
| pUC origin                             | 4463-5051 |

➤ pCMV-C-HA-Pur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 | GGCGAGATCG | GGCCCGCCTA | GGTTCGAAGA |         |      |        |
|      |            |            |            |            |            |         |      |        |
|      |            | EcoRI      | EcoRV      | SalI       | BglIII     | XhoI    | XbaI | HA tag |
|      |            |            |            |            |            |         |      | Y P Y  |
| 1735 | GCAGGAATTC | GATATCGTCG | ACAGATCTCT | CGAGTCTAGA | TACCCATACG |         |      |        |
|      | CGTCCTTAAG | CTATAGCAGC | TGTCTAGAGA | GCTCAGATCT | ATGGGTATGC |         |      |        |
|      |            |            |            |            |            |         |      |        |
|      | D          | V          | P          | D          | Y          | A       | ApaI |        |
|      |            |            |            |            |            |         |      |        |
| 1785 | ATGTTCCAGA | TTACGCTTAA | GGGCCCAGTA | CCTTAATTAA | TTAAGGTACC |         |      |        |
|      | TACAAGGTCT | AATGCGAATT | CCCGGGCCAT | GGAATTAATT | AATTCATGG  |         |      |        |

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

|          |        |        |        |        |        |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Afe I    | Age I  | Asc I  | AsiS I | Bae I  | Bbs I  |
| BbvC I   | Blp I  | BmgB I | Bsg I  | BspQ I | BsrG I |
| BstZ17 I | EcoN I | Fse I  | Nru I  | PflM I | Pme I  |
| Pml I    | PpuM I | PshA I | PspX I | Sap I  | Sbf I  |
| SgrA I   | Spe I  | Swa I  | Xcm I  |        |        |

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

|         |  |      |         |                  |      |
|---------|--|------|---------|------------------|------|
| AccI    | GT`MK, AC  | 1752 | HpaI    | GTT AAC          | 2147 |
| AflIII  | 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          | 3631 |
| ApaI    | G, GGCC`C  | 1805 | NdeI    | CA`TA, TG        | 1274 |
| BamHI   | G`GATC, C  | 1721 | NheI    | G`CTAG, C        | 1631 |
| BclI    | T`GATC, A  | 2041 | NotI    | GC`GGCC, GC      | 1702 |
| BfuAI   | ACCTGCNNNN`NNNN  | 3907 | Paer7I  | C`TCGA, G        | 1763 |
| BglII   | A`GATC, T  | 1757 | PciI    | A`CATG, T        | 5107 |
| BmtI    | G, CTAG`C  | 1631 | PflFI   | GACN`N, NGTC     | 3298 |
| Bpu10I  | CC`TNA, GC   | 3852 | PspOMI  | G`GGCC, C        | 1805 |
| BseRI   | GAGGAG(N) <sub>8</sub> , NN  | 3200 | PstI    | C, TGCA`G        | 1733 |
| BsiWI   | C`GTAC, G  | 3312 | PvuII   | CAG CTG          | 2882 |
| BsmBI   | CGTCTCN`NNNN   | 3648 | RsrII   | CG`GWC, CG       | 3372 |
| BspDI   | AT`CG, AT  | 3224 | SacI    | G, AGCT`C        | 1685 |
| BspEI   | T`CCGG, A  | 3369 | SalI    | G`TCGA, C        | 1751 |
| BspMI   | ACCTGCNNNN`NNNN  | 3907 | ScaI    | AGT ACT          | 616  |
| BssHII  | G`CGCG, C  | 3711 | SfiI    | GGCCN, NNN`NGGCC | 3156 |
| BstBI   | TT`CG, AA  | 3871 | SmaI    | CCC GGG          | 1716 |
| BstEII  | G`GTNAC, C   | 3390 | SnaBI   | TAC GTA          | 1380 |
| BstXI   | CCAN, NNNN`NTGG  | 1693 | SrfI    | GCCC GGGC        | 1716 |
| ClaI    | AT`CG, AT  | 3224 | TspMI   | C`CCGG, G        | 1714 |
| CspCI   | NN`(N) <sub>11</sub> CAA(N) <sub>5</sub> GTGG(N) <sub>10</sub> , NN` | 1414 | Tth111I | GACN`N, NGTC     | 3298 |
| 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 |

- pCMV-C-HA-Pur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-Pur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    |
|-------------|---------------|-------|
| D2793-1μg   | pCMV-C-HA-Pur | 1μg   |
| D2793-100μg | pCMV-C-HA-Pur | 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：

- 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。
- 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。
- pCMV-C-HA-Pur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。

### 相关产品：

| 产品编号        | 产品名称                             | 包装          |
|-------------|----------------------------------|-------------|
| ST551-10mg  | Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素) | 10mg/ml×1ml |
| ST551-50mg  | Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素) | 10mg/ml×5ml |
| ST551-250mg | Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素) | 250mg       |
| 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