



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-HA (腺病毒质粒)

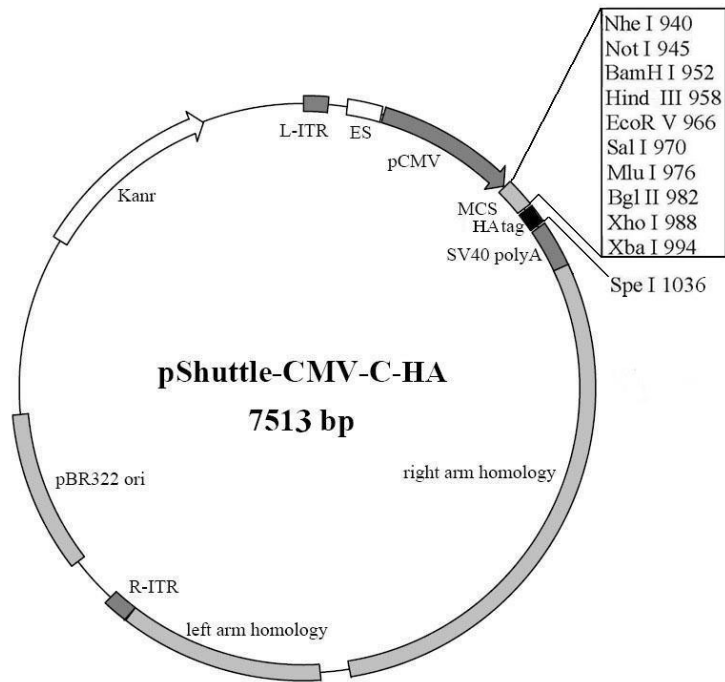
产品编号	产品名称	包装
D8121-1μg	pShuttle-CMV-C-HA (腺病毒质粒)	1μg
D8121-100μg	pShuttle-CMV-C-HA (腺病毒质粒)	100μg

### 产品简介:

- pShuttle-CMV-C-HA是碧云天自行研发的用于构建表达C端与HA tag(HA标签)融合的目的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-HA质粒可以用于在包装成腺病毒后表达C端含HA标签的融合蛋白。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。在多克隆位点的后面有一个编码HA标签的序列,因此在多克隆位点根据阅读框插入目的基因就可以表达C端含有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。
- 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-HA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
HA tag	999-1028
SV40 polyA	1048-1254
Ad5 right arm homology	1259-3513
Ad5 left arm homology	3561-4444
right inverted terminal repeat	4445-4547
pBR322 origin	4755-5422
kanamycin resistance ORF	6231-7022

- pShuttle-CMV-C-HA质粒的图谱如下:



➤ pShuttle-CMV-C-HA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
951  GGATCCAAGC TTGATATCGT CGACACGCGT AGATCTCTCG AGTCTAGA
    CCTAGGTTTCG AACTATAGCA GCTGTGCGCA TCTAGAGAGC TCAGATCT
    _____
    HA tag
    Y P Y D V P D Y A      SpeI
1001 TACCCATACG ATGTTCCAGA TTACGCTTAACTAG AACTAGTACT AGATAACTGA
    ATGGGTATGC TACAAGGTCT AATGCGAATTGATC TTGATCATGA TCTATTGACT
  
```

➤ pShuttle-CMV-C-HA中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pShuttle-CMV-C-HA)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-HA中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pShuttle-CMV-C-HA once)包括:

BsrGI	T`GTAC,A	193	HpaI	GTT AAC	1158
SnaBI	TAC GTA	679	PflMI	CCAN,NNN`NTGG	1936
NheI	G`CTAG,C	940	BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	2375
NotI	GC`GGCC,GC	945	BbsI	GAAGAC 8/12	3177
BamHI	G`GATC,C	952	BbvII	GAAGAC 7/11	3178
HindIII	A`AGCT,T	958	Bst1107I	GTA TAC	3531
EcoRV	GAT ATC	966	Xca	GTA TAC	3531
SalI	G`TCGA,C	970	PmeI	GTTT AAAC	3552
MluI	A`CGCG,T	976	EcoRI	G`AATT,C	3557
BglII	A`GATC,T	982	AvrII	C`CTAG,G	4099
PaeR7I	C`TCGA,G	988	BspHI	T`CATG,A	5495
XhoI	C`TCGA,G	988	Psp1406I	AA`CG,TT	5894
XbaI	T`CTAG,A	994	RsrII	CG`GWC,CG	6900
SpeI	A`CTAG,T	1036	DraIII	CAC,NNN`GTG	7247
ScaI	AGT ACT	1041	XmnI	GAANN NNTTC	7501

➤ pShuttle-CMV-C-HA质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

forward primer (888-907): 5'GGTCTATATAAGCAGAGCTG3'  
 Reverse primer (1050-1072): 5'GTGGTATGGCTGATTATGATCAG 3'

➤ pShuttle-CMV-C-HA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
D8121-1μg	pShuttle-CMV-C-HA	1μg
D8121-100μg	pShuttle-CMV-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. pShuttle-CMV-C-HA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HA标签不能发生移码突变。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)	200 $\mu$ l
D8202-1 $\mu$ g	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	1 $\mu$ g
D8202-100 $\mu$ g	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	100 $\mu$ g
D8215-1 $\mu$ g	pCMV-VSV-G (慢病毒包装用质粒)	1 $\mu$ g
D8215-100 $\mu$ g	pCMV-VSV-G (慢病毒包装用质粒)	100 $\mu$ g
D8216-1 $\mu$ g	pCAG-dR8.9 (慢病毒包装用质粒)	1 $\mu$ g
D8216-100 $\mu$ g	pCAG-dR8.9 (慢病毒包装用质粒)	100 $\mu$ g

Version 2022.11.16