



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-HA (腺病毒质粒)

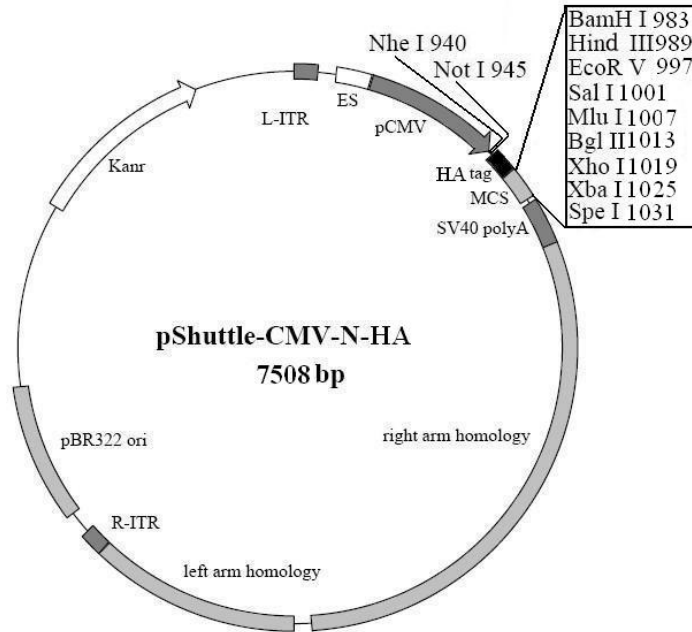
产品编号	产品名称	包装
D8133-1μg	pShuttle-CMV-N-HA (腺病毒质粒)	1μg
D8133-100μg	pShuttle-CMV-N-HA (腺病毒质粒)	100μg

产品简介:

- pShuttle-CMV-N-HA是碧云天自行研发的用于构建表达N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-N-HA质粒可以用于在包装成腺病毒后表达N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5'端有一个编码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N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-N-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
HA tag	955-981
multiple cloning site	983-1031
SV40 polyA	1043-1254
Ad5 right arm homology	1259-3514
Ad5 left arm homology	3561-4444
right inverted terminal repeat	4445-4547
pBR322 origin	4755-5422
kanamycin resistance ORF	6231-7022

- pShuttle-CMV-N-HA质粒的图谱如下:



➤ pShuttle-CMV-N-HA的多克隆位点的详细图谱如下:

```

                                NheI NotI Kozak序列
901  AGAGCTGGTT TAGTGAACCG TCAGATCCGC TAGAGATCGC TAGCGGCCGC
    TCTCGACCAA ATCACTTGGC AGTCTAGGCG ATCTCTAGCG ATCGCCGGCG
                                HA tag                                HindIII
                                Y P Y D V P D Y A BamHI EcoRV SalI
951  CATGTACCCA TACGATGTT CAGATTACGC TGGATCCAAG CTGATATCG
    GTACATGGGT ATGCTACAAG GTCTAATGCG ACCTAGGTT CAACTATAGC
                                MluI BglII XhoI XbaI SpeI
1001 TCGACACGCG TAGATCTCTC GAGTCTAGAA CTAGTACTAG ATAAGTATC
    AGCTGTGCGC ATCTAGAGAG CTCAGATCTT GATCATGATC TATTGACTAG
  
```

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

BsrGI	T`GTAC,A	193	HpaI	GTT AAC	1153
SnaBI	TAC GTA	679	PflMI	CCAN,NNN`NTGG	1931
NheI	G`CTAG,C	940	BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	2370
NotI	GC`GGCC,GC	945	BbsI	GAAGAC 8/12	3172
BamHI	G`GATC,C	983	BbvII	GAAGAC 7/11	3173
HindIII	A`AGCT,T	989	Bst1107I	GTA TAC	3526
EcoRV	GAT ATC	997	XcaI	GTA TAC	3526
SalI	G`TCGA,C	1001	PmeI	GTTT AAAC	3547
MluI	A`CGCG,T	1007	EcoRI	G`AATT,C	3552
BglII	A`GATC,T	1013	AvrII	C`CTAG,G	4094
PaeR7I	C`TCGA,G	1019	BspHI	T`CATG,A	5490
XhoI	C`TCGA,G	1019	Psp1406I	AA`CG,TT	5889
XbaI	T`CTAG,A	1025	RsrII	CG`GWC,CG	6895
SpeI	A`CTAG,T	1031	DraIII	CAC,NNN`GTG	7242
ScaI	AGT ACT	1036	XmnI	GAANN NNTTC	7496

➤ pShuttle-CMV-N-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 (1045-1067): 5'GTGGTATGGCTGATTATGATCAG3'

➤ pShuttle-CMV-N-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:

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D8133-1 μ g	pShuttle-CMV-N-HA	1 μ g
D8133-100 μ g	pShuttle-CMV-N-HA	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。
- 100 μ g包装的本产品质粒浓度为0.1 μ g/ μ l，共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。
- pShuttle-CMV-N-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

D8202-100μg	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	100μg
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 2022.12.01