



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-His(腺病毒质粒)

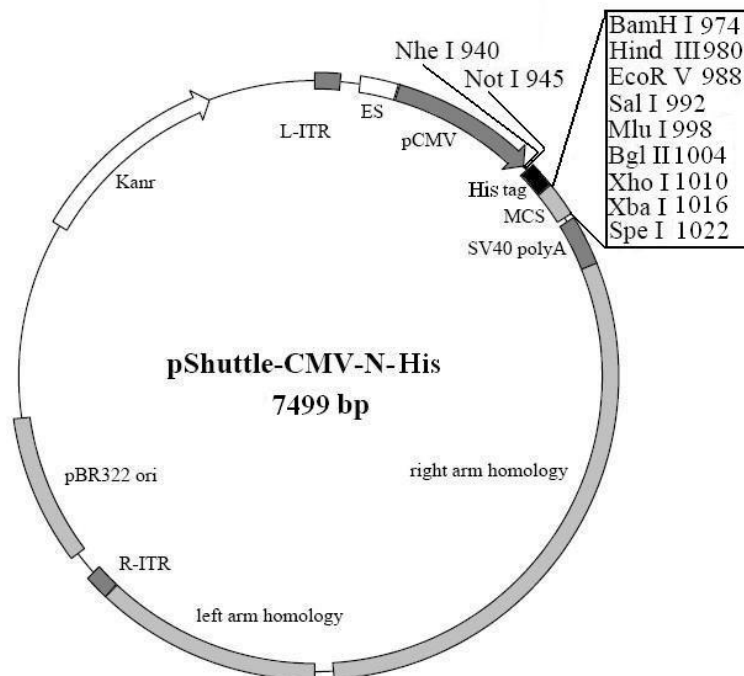
产品编号	产品名称	包装
D8135-1μg	pShuttle-CMV-N-His(腺病毒质粒)	1μg
D8135-100μg	pShuttle-CMV-N-His(腺病毒质粒)	100μg

产品简介:

- pShuttle-CMV-N-His是碧云天自行研发的用于构建表达N端His tag(His 标签)融合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-His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'端含有一个可以编码His标签的序列, 因此可以表达出含有His标签的融合蛋白, 可以方便地使用抗His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-His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
His tag	955-972
multiple cloning site	974-1027
SV40 polyA	1039-1250
Ad5 right arm homology	1255-3510
Ad5 left arm homology	3557-4440
right inverted terminal repeat	4441-4543
pBR322 origin	4751-5418
kanamycin resistance ORF	6227-7018

- pShuttle-CMV-N-His质粒的图谱如下:



➤ pShuttle-CMV-N-His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
      His tag                               HindIII
      H H H H H H BamHI                     EcoRV SalI MluI
951  CATGCATCAT CACCATCACC ATGGATCCAA GCTTGATATC GTCGACACGC
      GTACGTAGTA GTGGTAGTGG TACCTAGGTT CGAACTATAG CAGCTGTGCG
      BglII XhoI XbaI SpeI
1001 GTAGATCTCT CGAGTCTAGA ACTAGTACTA GATAACTGAT CATAATCAGC
      CATCTAGAGA GCTCAGATCT TGATCATGAT CTATTGACTA GTATTAGTCG
  
```

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

Acc65I	AflIII	AgeI	AscI	Asp718
BlpI	BsiCI	BsiWI	BstBI	Bsu36I
ClaI	Eco72I	EcoNI	EspI	FseI
KpnI	NruI	PmlI	PvuI	SfiI

➤ pShuttle-CMV-N-His中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pShuttle-CMV-N-His)包括:

BsrGI	T`GTAC,A	193	HpaI	GTT AAC	1144
SnaBI	TAC GTA	679	PflMI	CCAN,NNN`NTGG	1922
NheI	G`CTAG,C	940	BbsI	GAAGAC 8/12	3163
NotI	GC`GGCC,GC	945	BbvII	GAAGAC 7/11	3164
BamHI	G`GATC,C	974	Bst1107I	GTA TAC	3517
HindIII	A`AGCT,T	980	XcaI	GTA TAC	3517
EcoRV	GAT ATC	988	PmeI	GTTT AAAC	3538
SalI	G`TCGA,C	992	EcoRI	G`AATT,C	3543
MluI	A`CGCG,T	998	AvrII	C`CTAG,G	4085
BglII	A`GATC,T	1004	BspHI	T`CATG,A	5481
PaeR7I	C`TCGA,G	1010	Psp1406I	AA`CG,TT	5880
XhoI	C`TCGA,G	1010	RsrII	CG`GWC,CG	6886
XbaI	T`CTAG,A	1016	DraIII	CAC,NNN`GTG	7233
SpeI	A`CTAG,T	1022	XmnI	GAANN NNTTC	7487
ScaI	AGT ACT	1027			

➤ pShuttle-CMV-N-His质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

forward primer (888-907): 5'GGTCTATATAAGCAGAGCTG3'

Reverse primer (1036-1058): 5'GTGGTATGGCTGATTATGATCAG3'

➤ pShuttle-CMV-N-His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
D8135-1 μ g	pShuttle-CMV-N-His	1 μ g
D8135-100 μ g	pShuttle-CMV-N-His	100 μ g
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ 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。
2. pShuttle-CMV-N-His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His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
D8202-100 μ g	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	100 μ g
D8215-1 μ g	pCMV-VSV-G (慢病毒包装用质粒)	1 μ g

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