



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

pCMV-N-HA

产品编号	产品名称	包装
D2733-1μg	pCMV-N-HA	1μg
D2733-100μg	pCMV-N-HA	100μg

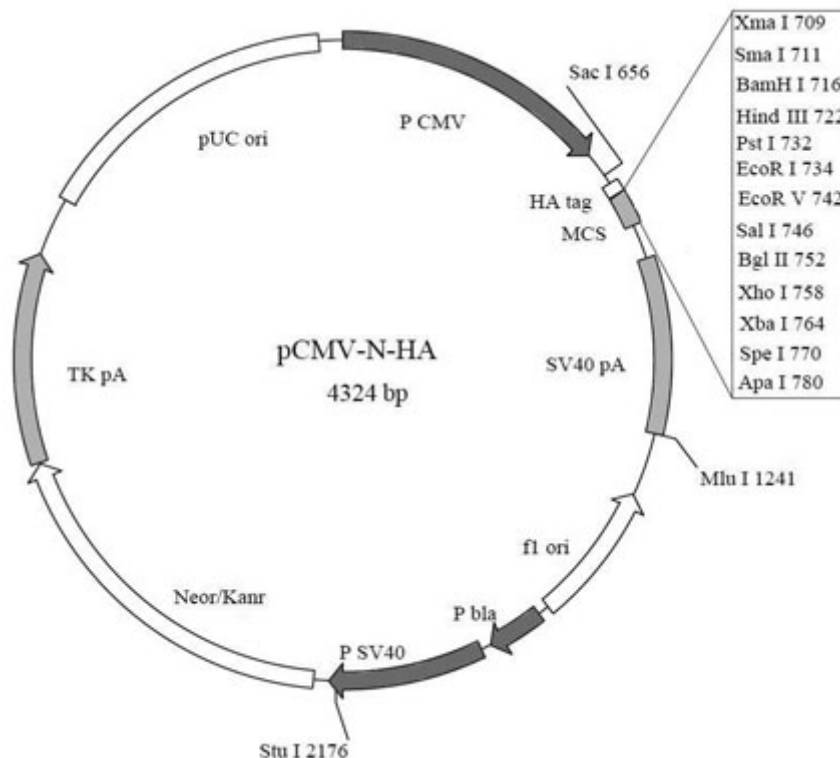
产品简介:

➤ pCMV-N-HA是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达N端和HA tag (HA标签)融合的目的蛋白的表达质粒。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'端含有一个可以编码HA标签的序列，因此可以表达出含有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。质粒为卡那霉素抗性。转染细胞后，可使用G418筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。

➤ pCMV-N-HA质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
CMV promoter		1-602
T3 promoter and T3 primer binding site		620-639
HA tag		679-705
multiple cloning site		708-781
T7 promoter and T7 primer binding site		824-845
SV40 polyA signal		857-1240
f1 origin of ss-DNA replication		1378-1684
bla promoter		1709-1833
SV40 promoter		1853-2191
neomycin/kanamycin resistance ORF		2226-3017
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal		3018-3476
pUC origin		3605-4272

➤ pCMV-N-HA质粒的图谱如下:



➤ pCMV-N-HA的多克隆位点的详细图谱如下:

```

                HA tag
                M Y P Y D V P D Y
SacI
651 GAGCTCCACC GCGGTGGCGG CCGCCATGTA CCCATACGAT GTTCCAGATT
    CTCGAGGTGG CGCCACCGCC GCGGGTACAT GGGTATGCTA CAAGGTCTAA

    XmaI                PstI
    A SmaI BamHI HindIII EcoRI EcoRV Sali
701 ACGCTAGCCC GGGCGGATCC AAGCTTCTGC AGGAATTCGA TATCGTCGAC
    TGCGATCGGG CCCGCCTAGG TTCGAAGACG TCCTTAAGCT ATAGCAGCTG

    BglII XbaI SpeI ApaI
751 AGATCTCTCG AGTCTAGAAC TAGTGGGCC GGTACCTTAA TTAATTAAGG
    TCTAGAGAGC TCAGATCTTG ATCACCCGGG CCATGGAATT AATTAATTCC
  
```

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

```

Afl II   Age I     Ahd I     Asc I     Bbs I     Bbv II    Blp I
Bsg I    BsiW I    BsmB I    BspM II   BsrG I    BssH II   Bst1107 I
BstE II  Ear I     Eco47 III Eco72 I    EcoN I    Esp I     Fse I
Nru I    PflM I    Pme I     Pml I     PpuM I    Psp1406 I Sap I
Sca I    Spl I
  
```

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

```

Nde I    CA`TA,TG      241          Pvu I      CG,AT`CG      858
SnaB I   TAC|GTA       347          Bcl I      T`GATC,A      1012
Sac I    G,AGCT`C     656          Mun I      C`AATT,G      1105
Sac II   CC,GC`GG     663          Hpa I      GTT|AAC       1118
BstX I   CCAN,NNNN`NTGG 664          Mlu I      A`CGCG,T      1241
Not I    GC`GGCC,GC   669          Dra III    CAC,NNN`GTG   1471
PspA I   C`CCGG,G     709          Sfi I      GGCCN,NNN`NGGCC 2130
Xma I    C`CCGG,G     709          BseR I     GAGGAG 16/14  2173
Srf I    GCCC|GGGC    711          Stu I      AGG|CCT       2176
Sma I    CCC|GGG      711          Cla I      AT`CG,AT      2195
BamH I   G`GATC,C     716          Kas I      G`GCGC,C      2354
Hind III A`AGCT,T     722          Nar I      GG`CG,CC      2355
Pst I    C,TGCA`G     732          Ehe I      GGC|GCC       2356
EcoR I   G`AATT,C     734          Bbe I      G,GCGC`C      2358
EcoR V   GAT|ATC      742          Msc I      TGG|CCA       2437
Sal I    G`TCGA,C     746          Tth111 I   GACN`N,NGTC   2473
Acc I    GT`MK,AC     747          BsrD I     GCAATG, 8     2588
Bgl II   A`GATC,T     752          Bsp1286 I  G,DGCH`C      2658
Paer7 I  C`TCGA,G     758          Rsr II     CG`GWC,CG     2871
Xho I    C`TCGA,G     758          BsiC I     TT`CG,AA      3037
Xba I    T`CTAG,A     764          BstB I     TT`CG,AA      3037
Spe I    A`CTAG,T     770          Bsa I      GGTCTC 7/11   3344
Bsp120 I G`GGCC,C     776          HgiE II    ACCNNNNNNGGT-1/13 3684
Apa I    G,GGCC`C     780          ApaL I     G`TGCA,C      3959
  
```

➤ pCMV-N-HA质粒中对于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 (620-639): 5' AATTAACCCTCACTAAAGGG 3'
 T7 primer (824-845): 5' GTAATACGACTCACTATAGGGC 3'

➤ pCMV-N-HA的全序列信息请参考碧云天网站上该质粒的信息。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2733-1μg	pCMV-N-HA	1μg
D2733-100μg	pCMV-N-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. 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。
3. pCMV-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，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。

使用本产品的文献:

1. Xing J, Wang S, Lin R, Mossman KL, Zheng C. Herpes simplex virus 1 tegument protein US11 down modulates the RLR signaling pathway via direct interaction with RIG-I and MDA-5. *J Virol.* 2012 Apr;86(7):3528-40.
2. Xing J, Ni L, Wang S, Wang K, Lin R, Zheng C. HSV-1 encoded tegument protein VP16 abrogates the production of interferon β by inhibiting NF- κ B activation and blocking IRF-3 to recruit its coactivator CBP. *J Virol.* 2013 Sep;87(17):9788-801.
3. Cai M, Li M, Wang K, Wang S, Lu Q, Yan J, Mossman KL, Lin R, Zheng C. The herpes simplex virus 1-encoded envelope glycoprotein B activates NF- κ B through the Toll-like receptor 2 and MyD88/TRAF6-dependent signaling pathway. *PLoS One.* 2013;8(1):e54586.
4. Qiu Y, Ding Y, Zou L, Tan Z, Liu T, Fu X, Xu W. Divergent roles of amino acid residues inside and outside the BB loop affect human Toll-like receptor (TLR)2/2, TLR2/1 and TLR2/6 responsiveness. *PLoS One.* 2013 Apr 23;8(4):e61508.
5. Zhang J, Wang S, Wang K, Zheng C. Herpes simplex virus 1 DNA polymerase processivity factor UL42 inhibits TNF- α -induced NF- κ B activation by interacting with p65/RelA and p50/NF- κ B1. *Med Microbiol Immunol.* 2013 Aug;202(4):313-25.
6. Huang Y, Zhang J, Halawa MA, Yao S. Nuclear localization signals of varicella zoster virus ORF4. *Virus Genes.* 2014 Apr;48(2):243-51.
7. Zhu X, Pan Q, Huang N, Wu J, Zhen N, Sun F, Li Z, Yang Q. RAD51 regulates CHK1 stability via autophagy to promote cell growth in esophageal squamous carcinomacells. *Tumour Biol.* 2016 Oct 14. [Epub ahead of print]
8. Li X, Du H, Liu L, You X, Wu M, Liao Z. MHC class II alpha, beta and MHC class II-associated invariant chains from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) and their response to immune stimulation. *Fish Shellfish Immunol.* 2017 Nov;70:1-12.
9. Wang H, Xin X, Wang M, Han L, Li J, Hao Y, Zheng C, Shen C. Myxovirus resistance protein A inhibits hepatitis C virus replication through JAK-STAT pathway activation. *Arch Virol.* 2018 Feb 7.
10. Wang H, Xin X, Wang M, Han L, Li J, Hao Y, Zheng C, Shen C. Myxovirus resistance protein A inhibits hepatitis C virus replication through JAK-STAT pathway activation. *Arch Virol.* 2018 Jun;163(6):1429-1438

Version 2021.09.01