



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-DsRed (腺病毒质粒, 红色荧光)

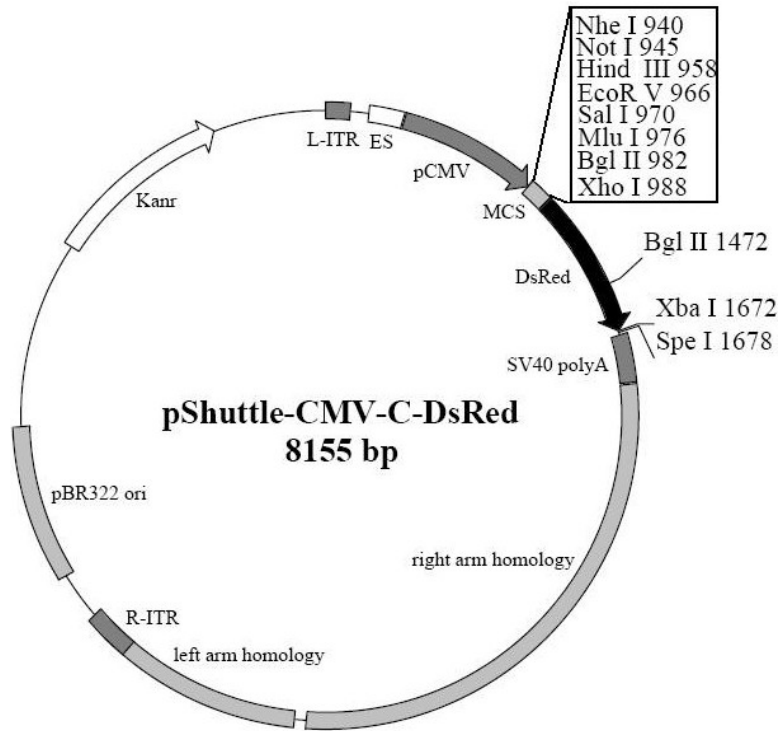
产品编号	产品名称	包装
D8115-1μg	pShuttle-CMV-C-DsRed (腺病毒质粒, 红色荧光)	1μg
D8115-100μg	pShuttle-CMV-C-DsRed (腺病毒质粒, 红色荧光)	100μg

### 产品简介:

- pShuttle-CMV-C-DsRed (腺病毒质粒, 红色荧光)是碧云天自行研发的用于构建表达C端DsRed(红色荧光蛋白)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-C-DsRed质粒可以用于在包装成腺病毒后表达C端含DsRed (Discosoma sp. red fluorescent protein, 香菇珊瑚红色荧光蛋白)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DsRed的完整编码序列, 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DsRed标签的融合蛋白。利用DsRed的荧光特性可以比较容易地观察融合蛋白的表达水平和细胞内定位, 也可以利用DsRed抗体来检测或免疫沉淀融合蛋白。DsRed与GFP没有序列同源性, 不能使用GFP抗体检测DsRed。
- 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-DsRed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		940-988
DsRed		993-1670
SV40 polyA		1690-1901
Ad5 right arm homology		1906-4160
Ad5 left arm homology		4208-5091
right inverted terminal repeat		4192-5194
pBR322 origin		5402-6069
kanamycin resistance ORF		6878-7669

- pShuttle-CMV-C-DsRed 质粒(8155bp)的图谱如下:



➤ pShuttle-CMV-C-DsRed 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
						DsRed
951	GGATCCAAGC	TTGATATCGT	CGACACGCGT	AGATCTCTCG	AGATGGACAA	
	CCTAGGTTTCG	AACTATAGCA	GCTGTGCGCA	TCTAGAGAGC	TCTACCTGTT	
1001	CACCGAGGAC	GTCATCAAGG	AGTTCATGCA	GTTCAAGGTG	CGCATGGAGG	
	GTGGCTCCTG	CAGTAGTTCC	TCAAGTACGT	CAAGTTCCAC	GCGTACCTCC	
1051	GCTCCGTGAA	CGGCCACTAC	TTCGAGATCG	AGGGCGAGGG	CGAGGGCAAG	
	CGAGGCACTT	GCCGGTGATG	AAGCTCTAGC	TCCCGTCCC	GCTCCGTTC	
1101	CCCTACGAGG	GCACCCAGAC	CGCCAAGCTG	CAGGTGACCA	AGGGCGGCC	
	GGGATGCTCC	CGTGGGTCTG	GCGGTTCGAC	GTCCACTGGT	TCCCGCCGGG	
1151	CCTGCCCTTC	GCCTGGGACA	TCCTGTCCCC	CCAGTTCCAG	TACGGCTCCA	
	GGACGGGAAG	CGGACCCTGT	AGGACAGGGG	GGTCAAGGTC	ATGCCGAGGT	
1201	AGGCCTACGT	GAAGCACCCC	GCCGACATCC	CCGACTACAT	GAAGCTGTCC	
	TCCGGATGCA	CTTCGTGGGG	CGGCTGTAGG	GGCTGATGTA	CTTCGACAGG	
1251	TTCCCCGAGG	GCTTCACCTG	GGAGCGCTCC	ATGAACTTCG	AGGACGGCGG	
	AAGGGGCTCC	CGAAGTGGAC	CCTCGCGAGG	TACTTGAAGC	TCCTGCCGCC	
1301	CGTGGTGGAG	GTGCAGCAGG	ACTCCTCCCT	GCAGGACGGC	ACCTTCATCT	
	GCACCACCTC	CACGTCGTCC	TGAGGAGGGA	CGTCCTGCCG	TGGAAGTAGA	
1351	ACAAGGTGAA	GTTCAAGGGC	GTGAACTTCC	CCGCCGACGG	CCCCGTAATG	
	TGTTCCACTT	CAAGTTCCTG	CACTTGAAGG	GGCGGCTGCC	GGGGCATTAC	
1401	CAGAAGAAGA	CTGCCGGCTG	GGAGCCCTCC	ACCGAGAAGC	TGTACCCCCA	
	GTCTTCTTCT	GACGGCCGAC	CCTCGGGAGG	TGGCTCTTCG	ACATGGGGGT	

### BglII

1451 GGACGGCGTG CTGAAGGGCG AGATCTCCCA CGCCCTGAAG CTGAAGGACG  
CCTGCCGCAC GACTTCCC GC TCTAGAGGGT GCGGGACTTC GACTTCTGTC

1501 GCGGCCACTA CACCTGCGAC TTCAAGACCG TGTACAAGGC CAAGAAGCCC  
CGCCGGTGAT GTGGACGCTG AAGTTCTGGC ACATGTTCGG GTTCTTCGGG

1551 GTGCAGCTGC CCGGCAACCA CTACGTGGAC TCCAAGCTGG ACATCACCAA  
CACGTCGACG GGCCGTTGGT GATGCACCTG AGGTTCGACC TGTAGTGTTT

1601 CCACAACGAG GACTACACCG TGGTGGAGCA GTACGAGCAC GCCGAGGCC  
GGTGTGCTC CTGATGTGGC ACCACCTCGT CATGCTCGTG CGGCTCCGGG

### XbaI SpeI

1651 GCCACTCCGG CTCCCAGTAG TCTAGAATA GTACTAGATA ACTGATCATA  
CGGTGAGGCC GAGGGTCATC AGATCTTGAT CATGATCTAT TGACTAGTAT

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

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

➤ pShuttle-CMV-C-DsRed 中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pShuttle-CMV-C-DsRed once)包括:

SnaBI	TAC GTA	679	ScaI	AGT ACT	1683
NheI	G`CTAG,C	940	HpaI	GTT AAC	1800
NotI	GC`GGCC,GC	945	BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	3017
BamHI	G`GATC,C	952	Bst1107I	GTA TAC	4173
HindIII	A`AGCT,T	958	XcaI	GTA TAC	4173
EcoRV	GAT ATC	966	PmeI	CTTT AAAC	4194
SalI	G`TCGA,C	970	EcoRI	G`AATT,C	4199
MluI	A`CGCG,T	976	AvrII	C`CTAG,G	4741
PaeR7I	C`TCGA,G	988	BspHI	T`CATG,A	6137
XhoI	C`TCGA,G	988	Psp1406I	AA`CG,TT	6536
StuI	AGG CCT	1204	RsrII	CG`GWC,CG	7542
XbaI	T`CTAG,A	1672	XmnI	GAANN NNTTC	8143
SpeI	A`CTAG,T	1678			

➤ pShuttle-CMV-C-DsRed 质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

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

Reverse primer (1692-1714): 5'GTGGTATGGCTGATTATGATCAG3'

➤ pShuttle-CMV-C-DsRed 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
D8115-1μg	pShuttle-CMV-C-DsRed	1μg
D8115-100μg	pShuttle-CMV-C-DsRed	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。

- 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。
- pShuttle-CMV-C-DsRed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DsRed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
D8115-1μg	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)	200μl
D8202-1μg	pLenti-H1 (慢病毒小RNA表达载体，绿色荧光)	1μg
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 2020.05.14