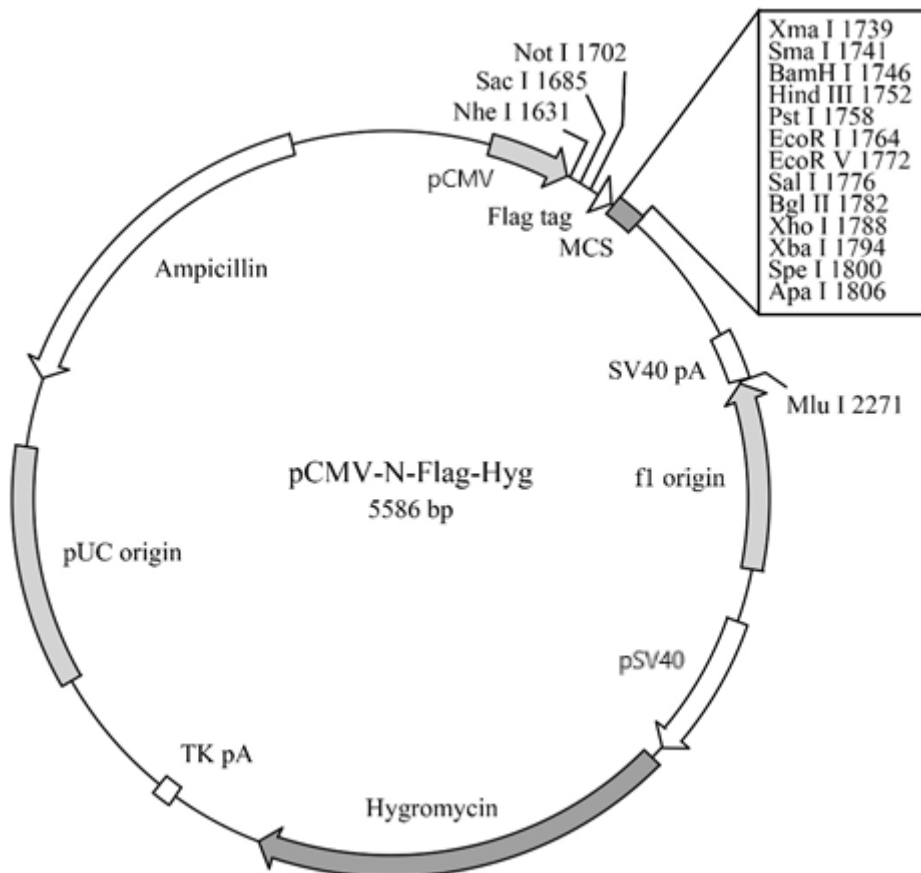


## pCMV-N-Flag-Hyg

产品编号	产品名称	包装
D2777-1μg	pCMV-N-Flag-Hyg	1μg
D2777-100μg	pCMV-N-Flag-Hyg	100μg

### 产品简介:

- pCMV-N-Flag-Hyg是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达N端带有Flag标签(Flag Tag, DYKDDDDK)的目的蛋白的表达质粒。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'端含有一个编码Flag标签的序列,可以表达含有Flag标签的融合蛋白,因此可以方便地使用抗Flag的抗体来识别目的蛋白,从而有利于目的蛋白检测和分离纯化。
- pCMV-N-Flag-Hyg质粒为氨苄青霉素抗性和潮霉素B (Hygromycin B)抗性。可利用其氨苄青霉素抗性转化大肠杆菌后筛选阳性菌,而在转染哺乳动物细胞后,可利用其Hygromycin B抗性筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。Hygromycin B (ST1389)可以从碧云天购买。
- Hygromycin B是来源于吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)的一种氨基糖苷类抗生素,可通过中断易位并增加80S核糖体上的错误翻译而抑制蛋白质的合成,从而杀死原核或真核细胞。大肠杆菌来源的Hygromycin B抗性基因(*hyg*或*hph*)所编码的Hygromycin B磷酸转移酶可将Hygromycin B磷酸化,导致其失活,从而使细胞对Hygromycin B产生抗性。因此,Hygromycin B可用于筛选成功转染Hygromycin B抗性基因的原核或真核细胞。
- Hygromycin B用于细胞筛选的浓度范围是100~1000μg/ml,实际应用时应针对不同的细胞系测试Hygromycin B的浓度梯度,确定最佳使用浓度。
- pCMV-N-Flag-Hyg质粒(5586bp)的图谱如下:



- pCMV-N-Flag-Hyg质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
Ampicillin resistance	ORF	63-923

CMV promoter	1405-1608
T3 promoter and T3 primer binding site	1654-1672
Flag tag	1713-1736
Multiple cloning site (XmaI-ApaI)	1739-1811
T7 promoter and T7 primer binding site	1857-1875
SV40 polyA signal	2149-2270
f1 origin of ss-DNA replication	2277-2732
SV40 promoter	2865-3222
Hygromycin resistance ORF	3257-4282
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	4514-4561
pUC origin	4890-5478

➤ pCMV-N-Flag-Hyg的多克隆位点的详细图谱如下:

				Flag tag						
	SacI		NotI	M	D	Y	K	D	D	D
1685	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCCATGGA	TTACAAGGAT	GACGACGATA					
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGGTACCT	AATGTTCTTA	CTGCTGCTAT					
		XmaI								
	K	SmaI		BamHI	HindIII		EcoRI	EcoRV	SalI	BglII
1735	AGAGCCCGGG	CGGATCCAAG	CTTCTGCAGG	AATTCGATAT	CGTCGACAGA					
	TCTCGGGCCC	GCCTAGGTTT	GAAGACGTCC	TTAAGCTATA	GCAGCTGTCT					
		XhoI	XbaI	SpeI	ApaI					
1785	TCTCTCGAGT	CTAGAACTAG	TGGGCCCGGT	ACCTTAATTA	ATTAAGGTAC					
	AGAGAGCTCA	GATCTTGATC	ACCCGGGCCA	TGGAATTAAT	TAATTCCATG					

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

Afe I	Afl II	Age I	Asc I	Bae I	BbsI
BbvC I	Blp I	BmgB I	Bpu10 I	Bsg I	BsiW I
BsmB I	BspQ I	BsrG I	BssH II	BstE II	BstZ17 I
EcoN I	Esp3 I	Fse I	Kas I	Msc I	Nar I
Nru I	PflM I	PluT I	Pme I	Pml I	PpuM I
PspX I	Sap I	Sbf I	Sfo I	SgrA I	Swa I
Xcm I					

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

AccI	GT`MK,AC	1777	NheI	G`CTAG,C	1631
AleI	CACNN NNGTG	1695	NotI	GC`GGCC,GC	1702
ApaI	G,GGCC`C	1806	Paer7I	C`TCGA,G	1788
AsiSI	GCG,AT`CGC	3619	PciI	A`CATG,T	5534
BamHI	G`GATC,C	1746	PflFI	GACN`N,NGTC	3761
BcgI	NN`(N) <sub>10</sub> CGA(N) <sub>6</sub> TGC(N) <sub>10</sub> ,NN`	639	PshAI	GACNN NNGTC	3284
BclI	T`GATC,A	2042	PspOMI	G`GGCC,C	1806
BglII	A`GATC,T	1782	PstI	C,TGCA`G	1758
BmtI	G,CTAG`C	1631	PvuII	CAG CTG	2883
BsaXI	NNN`(N) <sub>9</sub> AC(N) <sub>5</sub> CTCC(N) <sub>7</sub> ,NNN`	2432	RsrII	CG`GWC,CG	3665
BseRI	GAGGAG(N) <sub>8</sub> ,NN`	3201	SacI	G,AGCT`C	1685
BspDI	AT`CG,AT	3225	SacII	CC,GC`GG	1694
BstBI	TT`CG,AA	4298	SalI	G`TCGA,C	1776
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1693	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3157
ClaI	AT`CG,AT	3225	SmaI	CCC GGG	1741
CspCI	NN`(N) <sub>11</sub> CAA(N) <sub>5</sub> GTGG(N) <sub>10</sub> ,NN`	1414	SnaBI	TAC GTA	1380
EarI	CTCTTCN`NNN,	931	SpeI	A`CTAG,T	1800
Eco53kI	GAG CTC	1687	SrfI	GCCC GGGC	1741
EcoRI	G`AATT,C	1764	StuI	AGG CCT	3206
EcoRV	GAT ATC	1772	TspMI	C`CCGG,G	1739
HindIII	A`AGCT,T	1752	Tth111I	GACN`N,NGTC	3761
HpaI	GTT AAC	2148	XbaI	T`CTAG,A	1794

MfeI	C`AATT,G	2135	XhoI	C`TCGA,G	1788
MluI	A`CGCG,T	2271	XmaI	C`CCGG,G	1739
NdeI	CA`TA,TG	1274	XmnI	GAANN NNTTC	735

➤ pCMV-N-Flag-Hyg质粒中对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 (1654-1672): 5' AATTAACCCTCACTAAAGG 3'

T7 primer (1857-1875): 5' TAATACGACTCACTATAGG 3'

➤ pCMV-N-Flag-Hyg的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

➤ 不同真核表达质粒的比较和选择，以及标签和抗性的考虑可以参考如下网页：

<https://www.beyotime.com/goods.do?method=lcode&lcode=001001001004>

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D2777-1μg	pCMV-N-Flag-Hyg	1μg
D2777-100μg	pCMV-N-Flag-Hyg	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. pCMV-N-Flag-Hyg质粒在其多克隆位点适当酶切后可以插入待表达的基因，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。

### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
ST1389-50mg	Hygromycin B(潮霉素B)	50mg
ST1389-250mg	Hygromycin B(潮霉素B)	250mg
ST1389-1g	Hygromycin B(潮霉素B)	1g
ST1389-5g	Hygromycin B(潮霉素B)	5g
D2771-1μg	pCMV-N-Flag-Bla	1μg
D2771-100μg	pCMV-N-Flag-Bla	100μg
D2772-1μg	pCMV-N-HA-Bla	1μg
D2772-100μg	pCMV-N-HA-Bla	100μg
D2773-1μg	pCMV-N-Myc-Bla	1μg
D2773-100μg	pCMV-N-Myc-Bla	100μg
D2774-1μg	pCMV-C-Flag-Bla	1μg
D2774-100μg	pCMV-C-Flag-Bla	100μg
D2775-1μg	pCMV-C-HA-Bla	1μg
D2775-100μg	pCMV-C-HA-Bla	100μg
D2776-1μg	pCMV-C-Myc-Bla	1μg
D2776-100μg	pCMV-C-Myc-Bla	100μg
D2777-1μg	pCMV-N-Flag-Hyg	1μg
D2777-100μg	pCMV-N-Flag-Hyg	100μg
D2778-1μg	pCMV-N-HA-Hyg	1μg
D2778-100μg	pCMV-N-HA-Hyg	100μg
D2779-1μg	pCMV-N-Myc-Hyg	1μg
D2779-100μg	pCMV-N-Myc-Hyg	100μg
D2780-1μg	pCMV-C-Flag-Hyg	1μg

D2780-100µg	pCMV-C-Flag-Hyg	100µg
D2781-1µg	pCMV-C-HA-Hyg	1µg
D2781-100µg	pCMV-C-HA-Hyg	100µg
D2782-1µg	pCMV-C-Myc-Hyg	1µg
D2782-100µg	pCMV-C-Myc-Hyg	100µg
D2783-1µg	pCMV-N-Flag-Zeo	1µg
D2783-100µg	pCMV-N-Flag-Zeo	100µg
D2784-1µg	pCMV-N-HA-Zeo	1µg
D2784-100µg	pCMV-N-HA-Zeo	100µg
D2785-1µg	pCMV-N-Myc-Zeo	1µg
D2785-100µg	pCMV-N-Myc-Zeo	100µg
D2786-1µg	pCMV-C-Flag-Zeo	1µg
D2786-100µg	pCMV-C-Flag-Zeo	100µg
D2787-1µg	pCMV-C-HA-Zeo	1µg
D2787-100µg	pCMV-C-HA-Zeo	100µg
D2788-1µg	pCMV-C-Myc-Zeo	1µg
D2788-100µg	pCMV-C-Myc-Zeo	100µg
D2789-1µg	pCMV-N-Flag-Pur	1µg
D2789-100µg	pCMV-N-Flag-Pur	100µg
D2790-1µg	pCMV-N-HA-Pur	1µg
D2790-100µg	pCMV-N-HA-Pur	100µg
D2791-1µg	pCMV-N-Myc-Pur	1µg
D2791-100µg	pCMV-N-Myc-Pur	100µg
D2792-1µg	pCMV-C-Flag-Pur	1µg
D2792-100µg	pCMV-C-Flag-Pur	100µg
D2793-1µg	pCMV-C-HA-Pur	1µg
D2793-100µg	pCMV-C-HA-Pur	100µg
D2794-1µg	pCMV-C-Myc-Pur	1µg
D2794-100µg	pCMV-C-Myc-Pur	100µg
D2632-1µg	pCMV-C-Flag	1µg
D2632-100µg	pCMV-C-Flag	100µg
D2639-1µg	pCMV-C-HA	1µg
D2639-100µg	pCMV-C-HA	100µg
D2650-1µg	pCMV-C-His	1µg
D2650-100µg	pCMV-C-His	100µg
D2672-1µg	pCMV-C-Myc	1µg
D2672-100µg	pCMV-C-Myc	100µg
D2722-1µg	pCMV-N-Flag	1µg
D2722-100µg	pCMV-N-Flag	100µg
D2733-1µg	pCMV-N-HA	1µg
D2733-100µg	pCMV-N-HA	100µg
D2737-1µg	pCMV-N-His	1µg
D2737-100µg	pCMV-N-His	100µg
D2756-1µg	pCMV-N-Myc	1µg
D2756-100µg	pCMV-N-Myc	100µg

Version 2020.11.25