

## pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA(生物素标记质粒)

产品编号	产品名称	包装
D2971-1 $\mu$ g	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA (生物素标记质粒)	1 $\mu$ g
D2971-100 $\mu$ g	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA (生物素标记质粒)	100 $\mu$ g

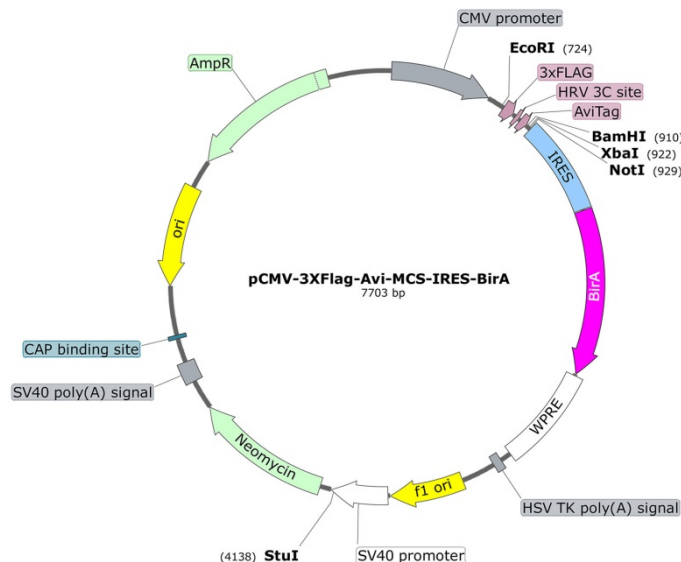
### 产品简介:

- pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA是碧云天自行研发的用于在哺乳动物细胞中表达生物素标记蛋白的质粒。该质粒由CMV启动子驱动带有3X Flag tag和Avi tag(Avi标签)的目的蛋白以及生物素连接酶(BirA)通过IRES序列共表达。在ATP和生物素(Biotin)存在的条件下,细胞内表达的生物素连接酶BirA催化Biotin共价结合到目的蛋白N端的Avi标签上,从而可以在表达目的蛋白的同时进行生物素标记。
- Avi标签(Avi-tag)是由15个氨基酸(GLNDIFEAQKIEWHE)组成的短肽标签,在ATP和生物素存在的条件下,生物素连接酶(biotin ligase) BirA在Avi标签的赖氨酸残基上连接一个生物素,从而实现目的蛋白的生物素标记。
- 生物素连接酶BirA特异性生物素标记Avi-tag有多方面的优点。Avi标签小且对融合蛋白的影响非常小,只针对Avi标签上的Lys残基进行特定位置的生物素标记,生物素标记效率高,可重复性好;体内或体外均可进行标记,标记后的蛋白与链霉亲和素(Streptavidin)的亲合力高,从而使Avi-tag技术可以应用于目的蛋白的固定吸附、纯化和检测等;相比于传统生物素化学标记的非特异性位点的标记, BirA催化的反应条件更温和,对被标记蛋白活力影响小,酶活效率高,标记特异性强。
- 内部核糖体进入位点序列(Internal Ribosome Entry Site, IRES)是一段茎环结构序列,在上游启动子的控制下IRES连接的两个基因转录成为一条mRNA,在翻译时IRES可以单独招募核糖体,实现IRES上、下游两个不同基因的共表达。通常下游基因的表达要相对弱一些。

- pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
CMV promoter		50-633
Flag Tag		739-804
HRV 3C site		823-846
Avi Tag		859-903
Multiple cloning site		910-929
IRES		936-1492
BirA		1499-2467
WPRE		2479-3067
HSV-thymidine Kinase (TK) poly(A) signal		3133-3181
SV40 promoter		3825-4154
Neomycin		4221-5015
SV40 poly(A) signal		5191-5312
ori		5763-6351
Ampicillin		6522-7382

- pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA质粒(7703bp)的图谱如下:



➤ pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA表达基因的详细图谱如下:

CMV promoter

401 TCTACGTATT AGTCATCGCT ATTACCATGG TGATGCGGTT TTGGCAGTAC  
AGATGCATAA TCAGTAGCGA TAATGGTACC ACTACGCCAA AACCGTCATG

451 ATCAATGGGC GTGGATAGCG GTTTGGACTCA CGGGGATTTC CAAGTCTCCA  
TAGTTACCCG CACCTATCGC CAAACTGAGT GCCCCTAAAG GTTCAGAGGT

501 CCCCATTGAC GTCAATGGGA GTTTGTTTTGG GCACCAAAT CAACGGGACT  
GGGGTAACCTG CAGTTACCCT CAAACAAAAC CGTGTTTTTA GTTGCCCTGA

551 TTCCAAAATG TCGTAACAAC TCCGCCCCAT TGACGCAAAT GGGCGGTAGG  
AAGGTTTTAC AGCATTGTTG AGGCGGGGTA ACTGCGTTTA CCCGCCATCC

601 CGTGTACGGT GGGAGGTCTA TATAAGCAGA GCTCGTTTAG TGAACCGTCA  
GCACATGCCA CCCTCCAGAT ATATTCTGTCT CGAGCAAATC ACTTGGCAGT

651 GATCGCCTGG AGACGCCATC CACGCTGTTT TGACCTCCAT AGAAGACACC  
CTAGCGGACC TCTGCGGTAG GTGCGACAAA ACTGGAGGTA TCTTCTGTGG

EcoRI 3xFlag

701 GGGACCGATC CAGCCTCCGG ACTGAATTCG CCACCATGGA CTACAAGGAC  
CCCTGGCTAG GTCGGAGGCC TGACTTAAGC GGTGGTACCT GATGTTCTCTG

751 CACGACGGCG ACTACAAGGA CCACGACATC GACTACAAGG ACGACGACGA  
GTGCTGCCGC TGATGTTCTT GGTGCTGTAG CTGATGTTCC TGCTGCTGCT

HRV 3C site

801 CAAGGGCGGC AGCGGCGGCA GCCTGGAGGT GCTGTTCCAG GGCCCCCTCG  
GTTCCCGCCG TCGCCGCCGT CGGACCTCCA CGACAAGGTC CCGGGGGAGC

851 AGGGTTCTGG CCTGAACGAT ATTTTTGAAG CGCAGAAAAT TGAATGGCAT  
TCCAAGACC GGACTTGCTA TAAAACTTC GCGTCTTTTA ACTTACCGTA

BamHI XbaI NotI IRES

901 GAAGGCGGCG GATCCACTAG TTCTAGAGCG GCCGCCCCCG CCCCTAACGT  
CTTCCGCCGC CTAGGTGATC AAGATCTCGC CGGCGGGGGG GGGGATTGCA

951 TACTGGCCGA AGCCGCTTGG AATAAGGCCG GTGTGCGTTT GTCTATATGT  
ATGACCGGCT TCGGCGAACC TTATTCCGGC CACACGCAA CAGATATACA

1001 TATTTTCCAC CATATTGCCG TCTTTTGGCA ATGTGAGGGC CCGGAAACCT  
ATAAAAGGTG GTATAACGGC AGAAAACCGT TACACTCCCG GGCCTTTGGA

1051 GGCCCTGTCT TCTTGACGAG CATTCCCTAGG GGTCTTTCCC CTCTCGCCAA  
CCGGGACAGA AGAACTGCTC GTAAGGATCC CCAGAAAGGG GAGAGCGGTT

1101 AGGAATGCAA GGTCTGTTGA ATGTCGTGAA GGAAGCAGTT CCTCTGGAAG  
TCCTTACGTT CCAGACAAC TACAGCACTT CCTTCGTCAA GGAGACCTTC

1151 CTTCTTGAAG ACAAACAACG TCTGTAGCGA CCCTTTGCAG GCAGCGGAAC  
GAAGAACTTC TGTTTGTTCG AGACATCGCT GGGAAACGTC CGTCGCCTTG

1201 CCCCCACCTG GCGACAGGTG CCTCTGCGGC CAAAAGCCAC GTGTATAAGA  
GGGGGTGGAC CGTGTCAC GAGACGCGG GTTTTCGGTG CACATATTCT

1251 TACACCTGCA AAGGCGGCAC AACCCAGTG CCACGTTGTG AGTTGGATAG  
ATGTGGACGT TTCCGCCGTG TTGGGGTCAC GGTGCAACAC TCAACCTATC

➤ pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA中没有的酶切位点包括:

AfeI	AflII	AgeI	AleI	Aor51HI	AscI	AsiGI
AsiSI	AsuII	AsuNHI	BaeI	BarI	BfrI	BlpI
BmtI	BoxI	Bpu14I	Bpu1102I	BsgI	BshTI	BsiWI
Bsp119I	Bsp1407I	Bsp1720I	BspOI	BspTI	BspT104I	BsrGI
Bst98I	BstAFI	BstAUI	BstBI	BstEII	BstHPI	BstPI
BstPAI	CelII	Csp45I	CspAI	Eco47III	Eco91I	EcoO65I
FseI	FspAI	HpaI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KspAI
MauBI	MreI	MspCI	MssI	NheI	NspV	OliI
PacI	PalAI	Pfl23II	PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PmeI
PpuMI	PshAI	Psp5II	PspEI	PspLI	PspPPI	PsrI

RgaI                    RigI                    SanDI                    SfaAI                    SfiI                    SfuI                    SgfI  
 SgrAI                    SgsI                    SmiI                    SrfI                    SspBI                    SwaI                    TstI  
 Vha464I

➤ pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA中的单酶切位点包括:

Acc65I	G`GTAC,C	1365	AhdI	GACNN,N`NNGTC	6595
BamHI	G`GATC,C	910	BbvCI	CC`TCA,GC	1982
BmgBI	CAC GTC	1467	BsmBI	CGTCTC 7/11	654
BssHII	G`CGCG,C	4746	BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1730
BstZ17I	GTA TAC	5323	Bsu36I	CC`TNA,GG	2447
ClaI	AT`CG,AT	2376	Eco53kI	GAG CTC	631
EcoNI	CCTNN`N,NNAGG	2180	EcoRI	G`AATT,C	724
EcoRV	GAT ATC	2470	HindIII	A`AGCT,T	1148
KpnI	G,GTAC`C	1369	MfeI	C`AATT,G	7679
MluI	A`CGCG,T	43	NdeI	CA`TA,TG	299
NotI	GC`GGCC,GC	929	PflFI	GACN`N,NGTC	4467
PmlI	CAC GTG	1240	PvuI	CG,AT`CG PspXI	6965
RsrII	CG`GWC,CG	4865	SacI	G,AGCT`C	633
SacII	CC,GC`GG	2982	SbfI	CC,TGCA`GG	2181
ScaI	AGT ACT	7075	SmaI	CCC GGG	4162
SnaBI	TAC GTA	405	SspI	AAT ATT	7399
StuI	AGG CCT	4138	TspMI	C`CCGG,G	4160
Tth111I	GACN`N,NGTC	4467	XbaI	T`CTAG,A	922
XhoI	C`TCGA,G	847	XmaI	C`CCGG,G	4160

➤ pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

CMV-F (583-603): 5'-CGCAAATGGGCGGTAGGCGT-3'

➤ pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

**包装清单:**

产品编号	产品名称	包装
D2971-1μg	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA	1μg
D2971-100μg	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA	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。

**相关产品:**

产品编号	产品名称	包装
D2971-1μg	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA	1μg
D2971-100μg	pCMV-3X Flag-Avi-MCS-IRES-BirA	100μg
D2973-1μg	pCMV-N-3X Flag-Avi-Neo	1μg
D2973-100μg	pCMV-N-3X Flag-Avi-Neo	100μg

Version 2021.07.26