

Code No. 3240

Code No. 3241

Code No. 3242

研究用

---

# TAKARA

pBApo-CMV Neo DNA

pBApo-CMV Pur DNA

pBApo-CMV DNA

---

说明书

# 目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 载体图谱和多克隆位点	1
● 操作方法	2
● 实验例	2
● 相关产品	3

## ● 制品说明

pBApo-CMV 是一类简单的应用于哺乳动物细胞的基因表达载体。该类载体具有巨细胞病毒来源的启动子 (CMV IE promoter)、单纯疱疹病毒胸苷激酶来源的 polyA 信号。通过在多克隆位点插入目的基因的开放阅读框 (ORF)，构建目的基因表达载体。除了编码蛋白质的基因以外，该类载体还可以用于表达前体 microRNA 和其它转录产物。

另外，pBApo-CMV 包含了具有新霉素抗性基因或嘌呤霉素抗性基因的载体，适用于在哺乳动物细胞中筛选稳定表达的细胞株。

## ● 制品内容

pBApo-CMV DNA (Code No. 3242) 20 μg

pBApo-CMV Neo DNA (Code No. 3240) 20 μg

pBApo-CMV Pur DNA (Code No. 3241) 20 μg

(浓度: 0.5 μg/μl)

贮存溶液: 10 mM Tris-HCl (pH8.0), 1 mM EDTA。

## ● 保存:

-20°C

\*自收到之日起，适当条件下保存，两年内有效。

## ● 载体图谱和多克隆位点:

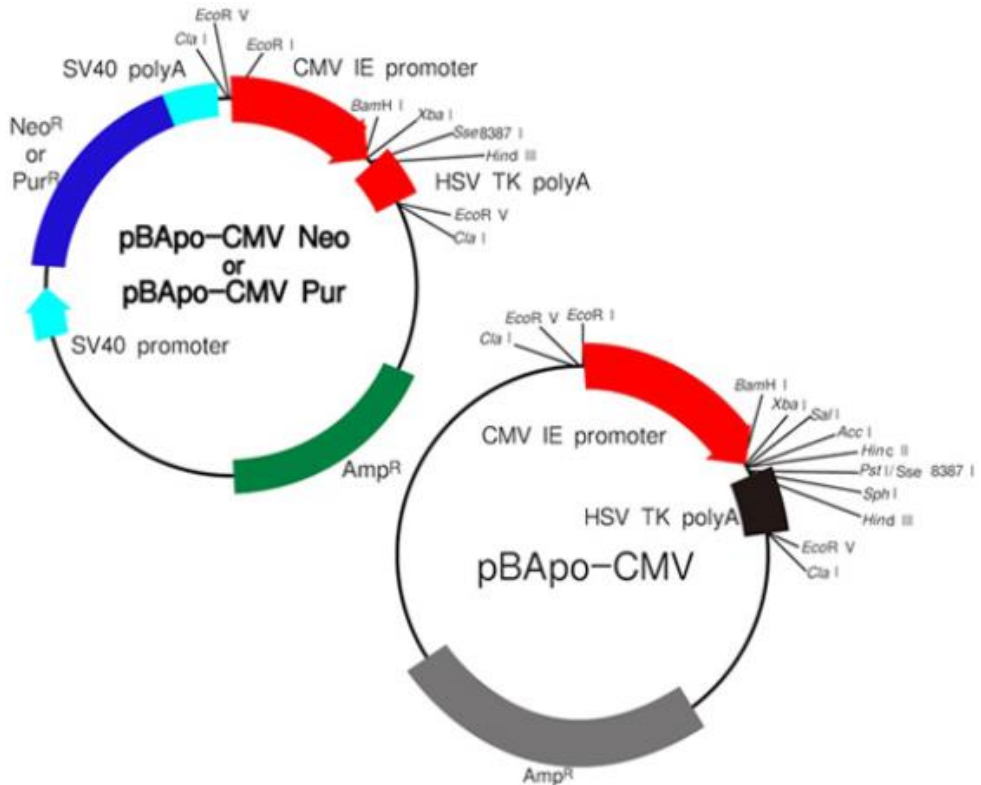


图 1. 载体图谱

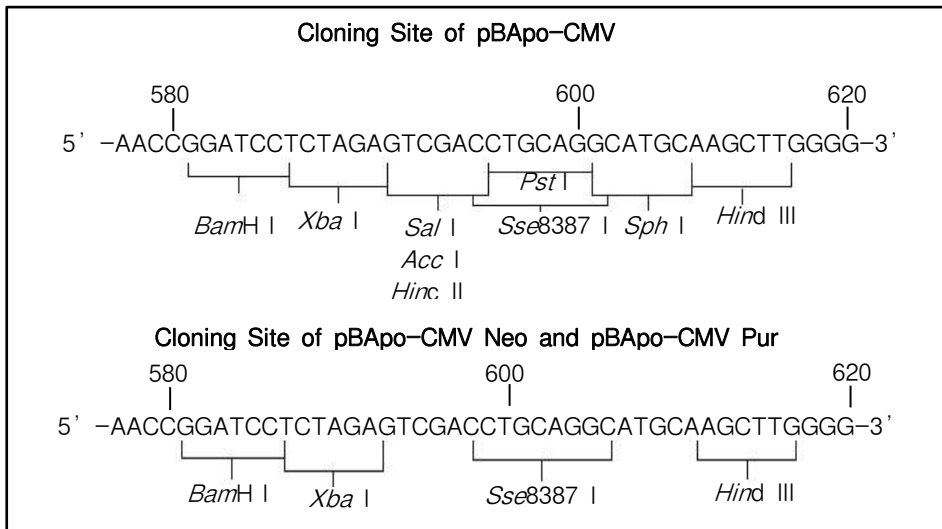


图 2. 多克隆位点图

## ● 操作方法

### 1. 基因插入

将目的基因 ORF 插入到 pBApo-CMV 质粒载体的多克隆位点中，转化到 *E.coli* 中，利用载体携带的氨苄抗性基因进行筛选。

### 2. 转染到培养细胞中

使用转染试剂如 Xfect™ (Code No. 631317 等)，按照说明书的操作方法将质粒转染到培养细胞中。

### 3. 筛选转染细胞

pBApo-CMV Neo DNA 带有新霉素抗性基因，pBApo-CMV Pur DNA 带有嘌呤霉素抗性基因，可以对转染细胞进行药物筛选。

药物筛选在质粒转染 24 小时后开始。如果细胞密度高，适当稀释后重新接种细胞，每 3~4 天更换一次含药物的培养基。通常情况下，在 1~2 周内可获得转染细胞。由于不同细胞对药物的敏感程度不同，要做预实验确定添加药物的适宜浓度。一般情况下，对于 Neo<sup>R</sup> 基因，G418 的浓度范围为 500~1,000 µg/ml；对于 Pur<sup>R</sup> 基因，嘌呤霉素的浓度范围为 1~3 µg/ml。

## ● 实验例：

### 构建荧光蛋白质表达载体 (DsRed-Express)

1. 使用 *Bam*H I 和 *Xba* I 消化 pBApo-CMV Neo DNA 后，切胶回收约 4.6 kb 的 DNA 片段。
2. 使用 DNA Ligation Kit <Mighty Mix> (Code No. 6023)，将来源于 pDsRed-Express Vector (Code No. 632412) 的 DsRed-Express 基因片段连接到线性化 pBApo-CMV Neo DNA 中。
3. 将连接产物转化到 *E. coli* JM109 (Code No. 9052) 感受态细胞中，在含氨苄青霉素的 LB 平板上涂布。
4. 取菌落到 2~5 ml LB Amp 液体培养基中培养，制备质粒。
5. 使用 TransIT-293 Transfection Reagent (Mirus Bio)，将制备的质粒转染到 293 培养细胞中。
6. 2 天后，使用荧光显微镜观察细胞，确认 DsRed-Express 基因表达。(参见图 3)

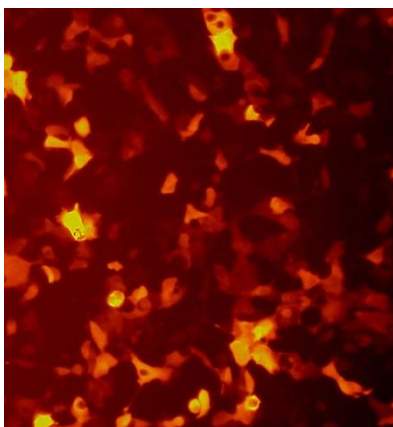


图 3. 荧光显微镜观察结果。pBApo-CMV Neo / DsRed-Express 转染 2 天后。

## ● 相关产品

pBApo-EF1  $\alpha$  Vector Series (Code No. 3243/3244)  
DNA Ligation Kit < Mighty Mix > (Code No. 6023)  
Xfect™ Transfection Reagent (Code No. 631317/631318)  
pDsRed-Express Vector (Code No. 632412)  
*Cla* I (Code No. 1034)  
*Eco*R V (Code No. 1042)  
*Smi* I (Code No. 1111)

Xfect is a trademark of Takara Bio USA, Inc.

### 注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经TAKARA BIO INC.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站[www.takara-bio.com](http://www.takara-bio.com)。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 TAKARA BIO INC.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

**技术咨询热线：**

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

**TAKARA BIO INC.**

URL: <http://www.takara.com.cn>