

製品コード 3240  
3241  
3242

研究用

---

# Takara

**pBApo-CMV Neo DNA (製品コード 3240)**

**pBApo-CMV Pur DNA (製品コード 3241)**

**pBApo-CMV DNA (製品コード 3242)**

---

説明書

## I. 製品説明

pBApo-CMV は、サイトメガロウイルス由来のプロモーター (CMV IE promoter) および単純ヘルペスウイルスチミジンカイネースのポリ A シグナルを搭載した、哺乳類細胞用のシンプルな遺伝子発現ベクターです。クローニングサイトに目的遺伝子の ORF を挿入することにより、目的遺伝子の発現プラスミドが得られます。また通常の遺伝子以外に、microRNA 前駆体などの転写産物の発現にも利用できます。さらに、「プロモーター + ORF + ポリ A シグナル」を切り出して、容易にアデノウイルスベクターに寄せ換えることも可能です。アデノウイルスベクターは高い感染効率と広い感染域を持っているため、*in vitro* あるいは *in vivo* での遺伝子導入に適しています。組換えアデノウイルスの作製には、Adenovirus Dual Expression Kit (製品コード 6170) をご利用ください。

pBApo-CMV シリーズでは、基本ベクターの他にネオマイシン耐性遺伝子またはピューロマイシン耐性遺伝子を搭載したベクターも取り揃えています。実験目的に応じたベクターを選択してください。

## II. 製品内容とベクターマップ

pBApo-CMV DNA (製品コード 3242) 20  $\mu$ g (500 ng/ $\mu$ l)  
薬剤耐性遺伝子を持たない基本ベクターです。

pBApo-CMV Neo DNA (製品コード 3240) 20  $\mu$ g (500 ng/ $\mu$ l)  
ネオマイシン耐性遺伝子を搭載しています。

pBApo-CMV Pur DNA (製品コード 3241) 20  $\mu$ g (500 ng/ $\mu$ l)  
ピューロマイシン耐性遺伝子を搭載しています。

[形状] 10 mM Tris-HCl, pH8.0、1 mM EDTA

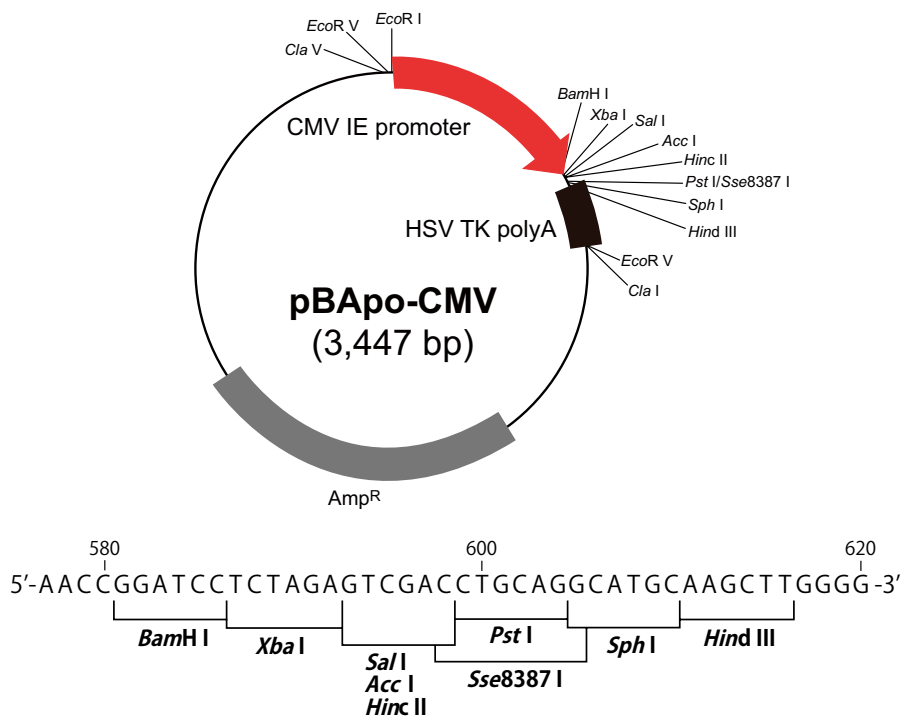


図 1. pBApo-CMV のクローニングサイト

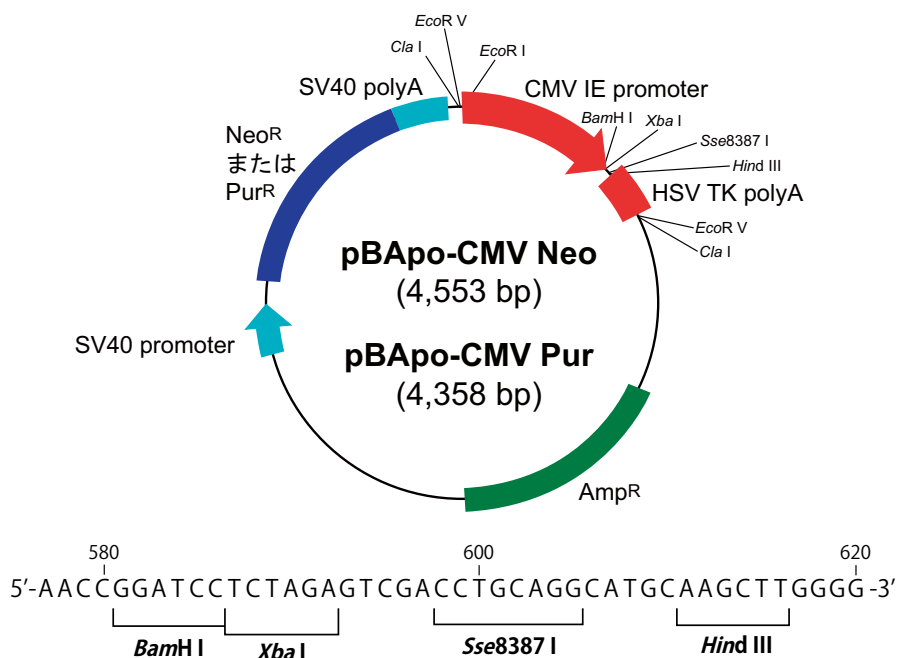


図 2. pBApo-CMV Neo、pBApo-CMV Pur のクローニングサイト

### III. 保存

− 20℃

※適切に保存し、受取り後 2 年を目途にご使用ください。

### IV. 使用方法

#### IV-1. 遺伝子の挿入

プラスミドベクターのクローニングサイトに目的遺伝子の ORF を挿入してください。アンピシリン耐性遺伝子が搭載されているため、組換え大腸菌を選択できます。

#### IV-2. 細胞への導入

*TransIT* シリーズなどの導入試薬を用いて、プラスミドを細胞に導入します。条件は導入試薬のプロトコールに従ってください。

#### IV-3. 遺伝子導入細胞の選択

pBApo-CMV Neo DNA はネオマイシン耐性遺伝子を、pBApo-CMV Pur DNA はピューロマイシン耐性遺伝子を搭載しているため、導入細胞を薬剤で選択することが可能です。

薬剤選択はプラスミド導入後 24 時間以上経過してから開始します。細胞密度が高い場合は適宜希釈して播きなおし、3～4 日ごとに薬剤入りの培地を交換します。通常、1～2 週間で導入細胞を得ることができます。

細胞によって薬剤に対する感受性は異なりますので、あらかじめ使用する細胞に適した濃度を検討してください。G418 は 500～1,000 μg/ml、ピューロマイシンは 1～3 μg/ml が目安になります。

#### IV-4. 発現ユニットの乗せ換え

pBApo-CMV シリーズは、*Cla*I または *Eco*RV で消化することにより、発現ユニット (CMV プロモーター + 挿入遺伝子 + ポリ A シグナル) を切り出すことができ、容易に他のベクターに乗せ換えることが可能です。

特に Adenovirus Dual Expression Kit (製品コード 6170) は、クローニングサイトとして *Cla*I および *Smi*I を持っているため、容易にアデノウイルスベクターに乗せ換えることが可能です。(EcoRV と *Smi*I はともに平滑末端であるため、ライゲーションが可能です。)

## V. 実験例

蛍光タンパク質 (DsRed-Express) 発現ベクターの構築

1. pBApo-CMV Neo DNA を *Bam*H I と *Xba* I で消化後、アガロースゲル電気泳動を行い、約 4.6 kb の DNA 断片を回収した。
2. pDsRed-Express Vector (製品コード 632412) から切り出した DsRed-Express 遺伝子の DNA 断片と消化済み pBApo-CMV Neo を DNA Ligation Kit < Mighty Mix > (製品コード 6023) を用いてライゲーションした。
3. 大腸菌コンピテントセル JM109 に導入し、アンピシリンを含む LB プレートにまいた。
4. 得られたコロニーを 2 ~ 5 ml LB Amp 液体培地に培養し、プラスミドを調製した。
5. あらかじめ培養しておいた 293 細胞に、遺伝子導入試薬 *TransIT*-293 を使用してプラスミドを導入した。
6. 2 日後に蛍光顕微鏡で観察し、DsRed-Express の発現を確認した。(図 3 参照)

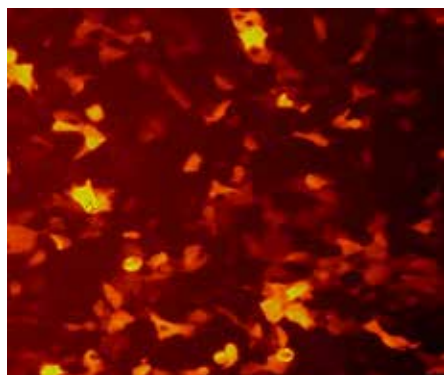


図 3. 蛍光顕微鏡画像  
pBApo-CMV Neo / DsRed-Express  
トランスフェクション後、2 日目

## VI. 関連製品

DNA Ligation Kit < Mighty Mix > (製品コード 6023)  
*E. coli* JM109 Competent Cells (製品コード 9052)  
*E. coli* HST08 Premium Competent Cells (製品コード 9128)  
*TransIT*-X2 Dynamic Delivery System (製品コード MIR6003)  
*TransIT*-LT1 Transfection Reagent (製品コード MIR2304)  
Adenovirus Dual Expression Kit (製品コード 6170)  
siRNA 発現用基本ベクター； pBA*si* シリーズ (製品コード 3220 ~ 3228)

## VII. 注意

- ・本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ・ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- ・本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

**テクニカルサポートライン**

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

---

**タカラバイオ株式会社**