

pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo

产品编号	产品名称	包装
D1001 - μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo	μg
D1001 - μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo	μg

产品简介:

- pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo是碧云天研发的用于在哺乳动物细胞中同时表达目的蛋白、增强绿色荧光蛋白EGFP和新霉素(Neomycin)抗性基因的表达质粒。
- 本质粒含有的CMV启动子可以高效启动目的基因的表达，同时可以通过P2A共表达增强绿色荧光蛋白EGFP，便于通过EGFP的荧光特性监测目的蛋白的表达情况。本质粒的表达效果可以参考图。

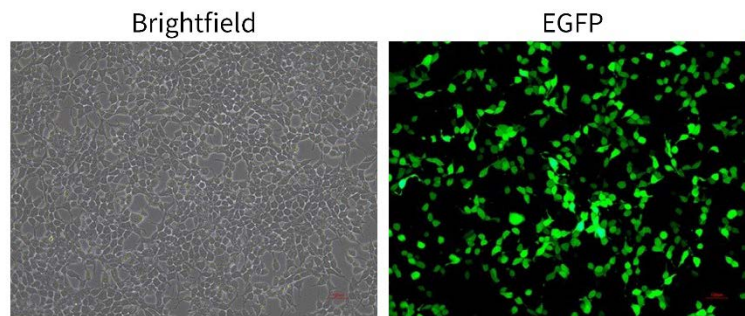


图1. 碧云天pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片，右侧为荧光照片。本图仅供参考，实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 本质粒在多克隆位点和EGFP的编码序列之间含有P2A肽序列。P2A是一个可以被理解为含有19个氨基酸残基(ATNFSLLKQAGDVEENPGP)的“自剪切”小肽。但实际的过程并不是发生自剪切，而是使核糖体跳过P2A等2A元件C端的甘氨酸和脯氨酸肽键的合成而发挥作用，最终导致2A序列末端和下游产物分离。上游目的基因表达蛋白的C端将会添加一些额外的P2A残基(GSGATNFSLLKQAGDVEENPG)，而下游蛋白的N端将会有额外的脯氨酸。在P2A肽的N端加入GSG序列，可提高剪切效率 [1,2]。
- 本质粒为卡那霉素(Kanamycin)和新霉素(Neomycin)抗性。可利用其卡那霉素抗性，转化大肠杆菌后筛选阳性克隆。转染哺乳动物细胞后，可使用G-418 (ST081/ST082)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
CMV enhancer		1-100
CMV promoter		101-190
T promoter		191-280
P2A		281-370
EGFP		371-460
Flag		461-550
T promoter		551-640
SV poly(A) signal		641-730
f ori		731-820
AmpR promoter		821-910
SV promoter		911-1000
SV ori		1001-1090
NeoR/KanR		1091-1180
HSV-thymidine kinase (TK) poly(A) signal		1181-1270
Ori		1271-1360

- pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo质粒(5098bp)的图谱如下：

CTGAAGAAGT TCAGGCGGTA CGGGCTTCCG ATGCAGGTCC TCGCGTGGTA

1097 CTTCTTCAAG GACGACGGCA ACTACAAGAC CCGCGCCGAG GTGAAGTTCG
GAAGAAGTTC CTGCTGCCGT TGATGTTCTG GGCGCGGCTC CACTTCAAGC

1147 AGGGCGACAC CCTGGTGAAC CGCATCGAGC TGAAGGGCAT CACTTCAAG
TCCCCTGTG GGACCACTTG GCGTAGCTCG ACTTCCCCTA GCTGAAGTTC

1197 GAGGACGGCA ACATCCTGGG GCACAAGCTG GAGTACAAC ACAACAGCCA
CTCCTGCCGT TGTAGGACCC CGTGTTCGAC CTCATGTTGA TGTGTTCGGT

1247 CAACGTCTAT ATCATGGCCG ACAAGCAGAA GAACGGCATC AAGGTGAACT
GTTGCAGATA TAGTACCGGC TGTTCGTCTT CTTGCCGTAG TTCCACTTGA

1297 TCAAGATCCG CCACAACATC GAGGACGGCA GCGTGCAGCT CGCCGACCAC
AGTTCTAGGC GGTGTTGTAG CTCCTGCCGT CGCACGTCGA GCGGCTGGTG

1347 TACCAGCAGA ACACCCCAT CGGCGACGGC CCCGTGCTGC TGCCCGACAA
ATGGTCGTCT TGTGGGGGTA GCCGCTGCCG GGCACGACG ACGGGCTGTT

1397 CCACTACCTG AGCACCCAGT CCGCCCTGAG CAAAGACCCC AACGAGAAGC
GGTGATGGAC TCGTGGGTCA GGCGGGACTC GTTTCTGGGG TTGCTCTTCG

1447 GCGATCACAT GGTCTGCTG GAGTTCGTGA CCGCCGCCGG GATCACTCTC
CGCTAGTGTA CCAGGACGAC CTCAAGCACT GGCGGCGGCC CTAGTGAGAG

1497 GGCATGGACG AGCTGTACAA GTCTAGAGAT TACAAGGATG ACGACGATAA
CCGTACCTGC TCGACATGTT CAGATCTCTA ATGTTCTCTAC TGCTGCTATT

- ApaI

1547 GTAAGGGCCC
CATTCCGGG

Flag tag

XbaI | D Y K D D D D K

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo中没有的酶切位点包括:

AclI	AfeI	AflII	AhdI	AscI	AsiSI	BaeI
BbsI	BbvCI	BlpI	BsiWI	BspEI	BspQI	BssHII
BstEII	BstZ17I	EarI	EcoNI	FseI	NruI	PaqCI
PflMI	PmeI	PmlI	PpuMI	PshAI	PspXI	SapI
SbfI	ScaI	SgrAI	SpeI	SwaI	XcmI	XmnI

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo中的单酶切位点包括:

AccI	GT`MK,AC	718	MluI	A`CGCG,T	2016
ApaI	G,GGCC`C	1555	MscI	TGG CCA	3210
ApaLI	G`TGCA,C	4732	NarI	GG`CG,CC	3128
BamHI	G`GATC,C	687	NdeI	CA`TA,TG	240
BcgI	,NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN`	891	NheI	G`CTAG,C	597
BclI	T`GATC,A	1787	NotI	GC`GGCC,GC	668
BglII	A`GATC,T	723	Paer7I	`GCGC,C	729
BmgBI	CAC GTC	779	PciI	A`CATG,T	5046
BmtI	G,CTAG`C	601	PflFI	GACN`N,NGTC	3246
BsaI	GGTCTCN`NNNN	4117	PluTI	G,GCGC`C	3131
BsaXI	,NNN`(N) ₉ AC(N) ₅ CTCC(N) ₇ ,NNN`	2180	PspOMI	G`GGCC,C	1551
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	769	PstI	C,TGCA`G	703
BspDI	AT`CG,AT	2968	PvuI	CG,AT`CG	1633
BsrDI	GCAATG,NN`	3361	RsrII	CG`GWC,CG	3644
BsrGI	T`GTAC,A	1510	SacI	G,AGCT`C	655
BstBI	TT`CG,AA	3810	SacII	CC,GC`GG	662
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	663	SalI	G`TCGA,C	717
ClaI	AT`CG,AT	2968	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	2903
CspCI	NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN`	382	SfoI	GGC GCC	3129
DraIII	CAC,NNN`GTG	2246	SmaI	CCC GGG	682
Eco53KI	GAG CTC	653	SnaBI	TAC GTA	346

EcoRI	G`AATT,C	705	SrfI	GCCC GGGC	682
EcoRV	GAT ATC	713	StuI	AGG CCT	2949
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	769	TspMI	C`CCGG,G	680
HindIII	A`AGCT,T	693	Tth111I	GACN`N,NGTC	3246
HpaI	GTT AAC	1893	XbaI	T`CTAG,A	1518
KasI	G`GCGC,C	3127	XhoI	C`TCGA,G	729
MfeI	C`AATT,G	1880	XmaI	C`CCGG,G	680

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo质粒中对于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EGFP primer的序列如下：

T primer (管-管) : 'AATTAACCTCACTAAAGGG '

EGFP primer (管-管) : 'CCTCGCCCTTGCTCACC '

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo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
D管 - μg	pCMV-MCS-P管-EGFP-Flag-Neo	μg
D管 - μg	pCMV-MCS-P管-EGFP-Flag-Neo	μg
—	说明书	份

保存条件：

-80℃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 μg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. μg包装的本产品浓度为 . μg/μl，共 ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。
3. pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo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，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。

参考文献：

1. Kim JH, Lee SR, Li LH, Park HJ, Park JH, et al. PLoS One. 管 . 管等:e 管 管
2. Ryan MD, King AM, Thomas GP. J Gen Virol. . 管):管- 管

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
ST 管	G-管	g
ST 管	G-管	g
D管管	pCMV-MCS-P管-EGFP-HA-Neo	μg/ μg
D管	pCMV-MCS-P管-EGFP-Myc-Neo	μg/ μg
D管管	pCMV-N-Flag-MCS-P管-EGFP-Neo	μg/ μg
D管 管	pCMV-N-HA-MCS-P管-EGFP-Neo	μg/ μg
D管 管	pCMV-N-His-MCS-P管-EGFP-Neo	μg/ μg
D管	pCMV-N-Myc-MCS-P管-EGFP-Neo	μg/ μg
D管	pCMV-N-Flag-MCS-P管-mCherry-Hyg	μg/ μg
D管 管	pCMV-N-HA-MCS-P管-mCherry-Hyg	μg/ μg
D管	pCMV-N-Myc-MCS-P管-mCherry-Hyg	μg/ μg
D管 管	pCMV-MCS-P管-mCherry-Flag-Hyg	μg/ μg
D管	pCMV-N-Flag-MCS-P管-mCherry-Pur	μg/ μg
D管	pCMV-N-HA-MCS-P管-mCherry-Pur	μg/ μg

D ₁	pCMV-N-Myc-MCS-P ₁ -mCherry-Pur	μg/ μg
D ₂	pCMV-N-HA-MCS-P ₁ -EGFP-Bla	μg/ μg
D ₃	pCMV-N-Myc-MCS-P ₁ -EGFP-Bla	μg/ μg
D ₄	pCMV-MCS-P ₁ -EGFP-Flag-Bla	μg/ μg
D ₅	pCMV-N-Flag-MCS-P ₁ -EGFP-Zeo	μg/ μg
D ₆	pCMV-N-HA-MCS-P ₁ -EGFP-Zeo	μg/ μg
D ₇	pCMV-N-Myc-MCS-P ₁ -EGFP-Zeo	μg/ μg
D ₈	pCMV-MCS-P ₁ -EGFP-Flag-Zeo	μg/ μg
D ₉	pCMV-MCS-P ₁ -EGFP-HA-Bla	μg/ μg
D ₁₀	pCMV-MCS-P ₁ -EGFP-Myc-Bla	μg/ μg
D ₁₁	pCMV-MCS-P ₁ -mCherry-HA-Hyg	μg/ μg
D ₁₂	pCMV-MCS-P ₁ -mCherry-Myc-Hyg	μg/ μg
D ₁₃	pCMV-MCS-P ₁ -mCherry-HA-Pur	μg/ μg
D ₁₄	pCMV-MCS-P ₁ -mCherry-Myc-Pur	μg/ μg
D ₁₅	pCMV-MCS-P ₁ -mCherry-Flag-Pur	μg/ μg
D ₁₆	pCMV-N-Flag-MCS-P ₁ -EGFP-Bla	μg/ μg
D ₁₇	pCMV-MCS-P ₁ -EGFP-HA-Zeo	μg/ μg
D ₁₈	pCMV-MCS-P ₁ -EGFP-Myc-Zeo	μg/ μg

Version 2022.03.18