

pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo

产品编号	产品名称	包装
D2757-1 μ g	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo	1 μ g
D2757-100 μ g	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo	100 μ g

产品简介:

- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo是碧云天研发的用于在哺乳动物细胞中同时表达N端带有Myc标签(Myc tag, EQKLISEEDL)的目的蛋白、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CMV启动子可以高效启动目的基因的表达; 可以方便地使用抗Myc标签的抗体(AF5054/AF0033/AM933/AM926)来检测目的蛋白; 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1。

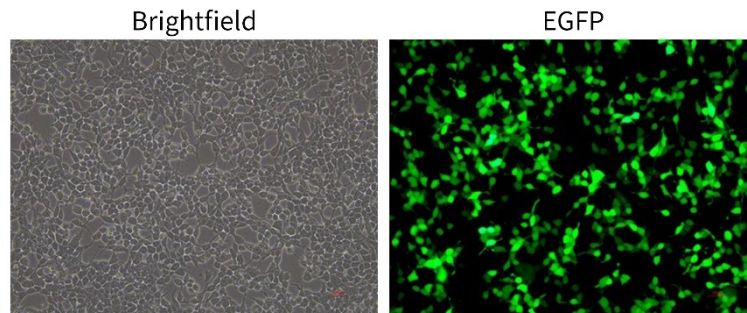
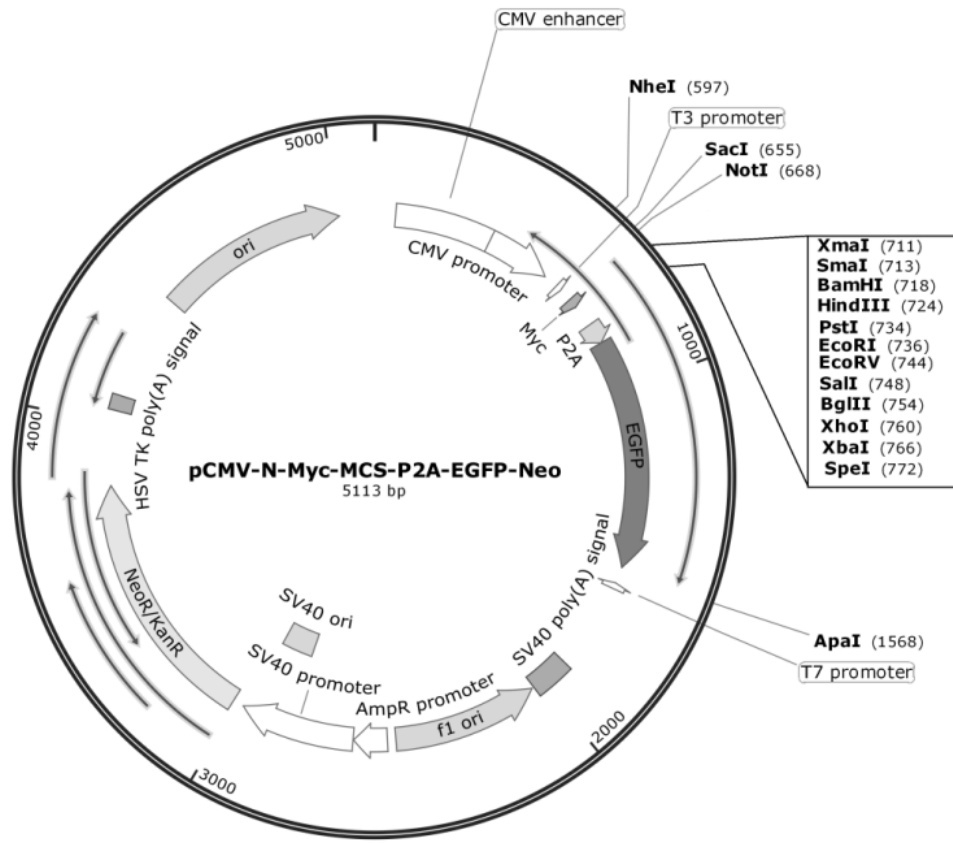


图1. 碧云天pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片, 右侧为荧光照片。本图仅供参考, 实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 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-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
CMV enhancer	67-370
CMV promoter	371-574
T3 promoter	620-638
Myc	679-708
P2A	778-843
EGFP	844-1563
T7 promoter	1615-1633
SV40 poly(A) signal	1907-2028
f1 ori	2035-2490
AmpR promoter	2517-2621
SV40 promoter	2623-2980
SV40 ori	2831-2966
NeoR/KanR	3015-3809
HSV TK poly(A) signal	4041-4088
ori	4417-5005

- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo质粒(5113bp)的图谱如下:



➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo的多克隆位点的详细图谱如下：

				Myc tag														
	SacI		NotI	E Q K L I S E E														
651	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCCATGGA	GCAGAAACTC	ATCTCTGAAG													
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGGTACCT	CGTCTTTGAG	TAGAGACTTC													
		XmaI		PstI														
	D L	SmaI	BamHI	HindIII	EcoRI	EcoRV	SalI											
701	AGGATCTGAG	CCCGGGCGGA	TCCAAGCTTC	TGCAGGAATT	CGATATCGTC													
	TCCTAGACTC	GGGCCCCT	AGTTTGAAG	ACGTCCTTAA	GCTATAGCAG													
				P2A sequence														
	BglIII	XhoI	XbaI	SpeI	G	S	G	A T N F S										
751	GACAGATCTC	TCGAGTCTAG	AACTAGTGGA	AGCGGAGCTA	CTAACTTCAG													
	CTGTCTAGAG	AGCTCAGATC	TTGATCACCT	TCGCTCGAT	GATTGAAGTC													
		L	L	K	Q	A	G	D	V	E	E	N	P	G	P	EGFP sequence		
801	CCTGCTGAAG	CAGGCTGGAG	ACGTGGAGGA	GAACCCTGGA	CCTATGGTGA													
	GGACGACTTC	GTCCGACTC	TGCACCTCCT	CTTGGGACCT	GGATAACCACT													
851	GCAAGGGCGA	GGAGCTGTTT	ACCGGGTGG	TGCCATCCT	GGTCGAGCTG													
	CGTTCCCCT	CCTCGACAAG	TGGCCCACC	ACGGGTAGGA	CCAGCTCGAC													
901	GACGGCGACG	TAAACGGCCA	CAAGTTCAGC	GTGTCCGGCG	AGGGCGAGGG													
	CTGCCGCTGC	ATTTGCCGGT	GTTCAAGTCG	CACAGGCCGC	TCCCCTCC													
951	CGATGCCACC	TACGGCAAGC	TGACCCTGAA	GTTTCATCTGC	ACCACCGGCA													
	GCTACGGTGG	ATGCCGTTTCG	ACTGGGACTT	CAAGTAGACG	TGGTGGCCGT													
1001	AGCTGCCCCT	GCCCTGGCCC	ACCCTCGTGA	CCACCCTGAC	CTACGGCGTG													
	TCGACGGGCA	CGGGACCGGG	TGGGAGCACT	GGTGGGACTG	GATGCCGCAC													

1051 CAGTGCTTCA GCCGCTACCC CGACCACATG AAGCAGCAGC ACTTCTTCAA
 GTCACGAAAGT CGGCGATGGG GCTGGTGTAC TTCGTCGTGC TGAAGAAGTT

1101 GTCCGCCATG CCCGAAGGCT ACGTCCAGGA GCGCACCATC TTCTTCAAGG
 CAGGCGGTAC GGGCTTCCGA TGCAGGTCCT CGCGTGGTAG AAGAAGTTCC

1151 ACGACGGCAA CTACAAGACC CGCGCCGAGG TGAAGTTCGA GGGCGACACC
 TGCTGCCGTT GATGTTCTGG GCGCGGCTCC ACTTCAAGCT CCCGCTGTGG

1201 CTGGTGAACC GCATCGAGCT GAAGGGCATC GACTTCAAGG AGGACGGCAA
 GACCACTTGG CGTAGCTCGA CTTCCCCTAG CTGAAGTTCC TCCTGCCGTT

1251 CATCCTGGGG CACAAGCTGG AGTACAATA CAACAGCCAC AACGTCTATA
 GTAGGACCCC GTGTTTCGACC TCATGTTGAT GTTGTGCGGTG TTGCAGATAT

1301 TCATGGCCGA CAAGCAGAAG AACGGCATCA AGGTGAACTT CAAGATCCGC
 AGTACCGGCT GTTCGTCTTC TTGCCGTAGT TCCACTTGAA GTTCTAGGCG

1351 CACAACATCG AGGACGGCAG CGTGCAGCTC GCCGACCACT ACCAGCAGAA
 GTGTTGTAGC TCCTGCCGTC GCACGTCGAG CGGCTGGTGA TGGTCGTCTT

1401 CACCCCATC GCGCAGCGCC CCGTGTGCT GCCCGACAAC CACTACCTGA
 GTGGGGTAG CCGCTGCCGG GGCACGACGA CGGGCTGTTG GTGATGGACT

1451 GCACCCAGTC CGCCCTGAGC AAAGACCCCA ACGAGAAGCG CGATCACATG
 CGTGGGTCAG GCGGGACTCG TTTCTGGGGT TGCTCTTCGC GCTAGTGTAC

1501 GTCCTGTGG AGTTCGTGAC CGCCGCCGGG ATCACTCTCG GCATGGACGA
 CAGGACGACC TCAAGCACTG GCGGCGGCC TAGTGAGAGC CGTACCTGCT

ApaI

1551 GCTGTACAAG TAAGGGCCCG GTACCTTAAT TAATTAAGGT ACCAGGTAAG
 CGACATGTTT ATTCCCAGGC CATGGAATTA ATTAATTCCA TGGTCCATTC

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo中已有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AccIII	Acc113I	AccB7I	AclI	AcvI
AfeI	AflII	AgeI	AhdI	Aor13HI	Aor51HI	AscI
AsiGI	AsiSI	Asp700I	AspEI	BaeI	BbrPI	BbsI
BbvCI	BfrI	BlpI	BmcAI	BmeRI	BoxI	BpiI
Bpu1102I	BpuAI	BseAI	BsePI	BshTI	BsiWI	Bsp13I
Bsp68I	Bsp1720I	BspEI	BspQI	BspTI	BssHII	BssNAI
Bst98I	Bst1107I	BstAFI	BstEII	BstENI	BstPI	BstPAI
BstV2I	BstZ17I	BtuMI	CelII	CspAI	DriI	Eam1105I
Eco47III	Eco72I	Eco91I	EcoNI	EcoO65I	FseI	FspAI
I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	Kpn2I	LguI	MauBI	MreI
MroI	MroXI	MspCI	MssI	NruI	PalAI	PauI
PciSI	PdmI	Pfl123II	PflMI	PI-PspI	PI-SceI	PinAI
PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI	PshAI	Psp5II	Psp1406I
PspCI	PspEI	PspLI	PspPPI	PspXI	PsrI	RgaI
RigI	SanDI	SapI	SbfI	ScaI	SdaI	SfaAI
SgfI	SgrAI	SgrDI	SgsI	SmiI	Sse8387I	SwaI
Van91I	Vha464I	XagI	XcmI	XmnI	ZrmI	

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

AccI	GT`MK, AC	749	MluI	A`CGCG, T	2029
ApaI	G, GGCC`C	1568	MscI	TGG CCA	3225
ApaLI	G`TGCA, C	4747	NarI	GG`CG, CC	3143
BamHI	G`GATC, C	718	NdeI	CA`TA, TG	240
BcgI	, NN` (N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ , NN`	934	NheI	G`CTAG, C	597
BclI	T`GATC, A	1800	NotI	GC`GGCC, GC	668
BglII	A`GATC, T	754	Paer7I	C`TCGA, G	760
BmgBI	CAC GTC	822	PciI	A`CATG, T	5061
BmtI	G, CTAG`C	601	PflFI	GACN`N, NGTC	3261

BsaI	GGTCTCN`NNNN,	4132	PluTI	G,GCGC`C	3146
BsaXI	,NNN`(N) ₉ ACNNNNNCTCC(N) ₇ ,NNN`	2193	PspOMI	G`GGCC,C	1564
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	812	PstI	C,TGCA`G	734
BspDI	AT`CG,AT	2983	PvuI	CG,AT`CG	1646
BsrDI	GCAATG,NN`	3376	RsrII	CG`GWC,CG	3659
BsrGI	T`GTAC,A	1553	SacI	G,AGCT`C	655
BstBI	TT`CG,AA	3825	SacII	CC,GC`GG	662
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	663	SalI	G`TCGA,C	748
ClaI	AT`CG,AT	2983	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	2918
CspCI	,NN`(N) ₁₁ CAANNNNNGTGG(N) ₁₀ ,NN`	382	SfoI	GGC GCC	3144
DraIII	CAC,NNN`GTG	2259	SmaI	CCC GGG	713
DarI	CTCTTCN`NNN,	692	SnaBI	TAC GTA	346
Eco53kI	GAG CTC	653	SpeI	A`CTAG,T	772
EcoRI	G`AATT,C	736	SrfI	GCCC GGGC	713
EcoRV	GAT ATC	744	StuI	AGG CCT	2964
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	812	TspMI	C`CCGG,G	711
HindIII	A`AGCT,T	724	Tth111I	GACN`N,NGTC	3261
HpaI	GTT AAC	1906	XbaI	T`CTAG,A	766
KasI	G`GCGC,C	3142	XhoI	C`TCGA,G	760
MfeI	C`AATT,G	1893	XmaI	C`CCGG,G	711

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-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：

T3 primer (620-639): 5' AATTAACCCTCACTAAAGGG 3'

EGFP primer (846-862): 5' CCTCGCCCTTGCTCACC 3'

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo的全序列信息请参考碧云天网站上该质粒的信息。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D2757-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo	1μg
D2757-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo	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-Myc-MCS-P2A-EGFP-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. 2011. 6(4):e18556.
2. Ryan MD, King AM, Thomas GP. J Gen Virol. 1991. 72(11):2727-32.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
ST081	G-418	1g
ST082	G-418	5g
C0533-0.5ml	Lipo8000™转染试剂	0.5ml
C0533-1.5ml	Lipo8000™转染试剂	1.5ml
C0533-7.5ml	Lipo8000™转染试剂	7.5ml
D2633	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo	1μg/100μg
D2640	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Neo	1μg/100μg
D2673	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo	1μg/100μg

D2723	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-EGFP-Neo	1μg/100μg
D2734	pCMV-N-HA-MCS-P2A-EGFP-Neo	1μg/100μg
D2738	pCMV-N-His-MCS-P2A-EGFP-Neo	1μg/100μg
D2795	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-mCherry-Hyg	1μg/100μg
D2796	pCMV-N-HA-MCS-P2A-mCherry-Hyg	1μg/100μg
D2797	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg	1μg/100μg
D2798	pCMV-MCS-P2A-mCherry-Flag-Hyg	1μg/100μg
D2799	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-mCherry-Pur	1μg/100μg
D2801	pCMV-N-HA-MCS-P2A-mCherry-Pur	1μg/100μg
D2803	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur	1μg/100μg
D2807	pCMV-N-HA-MCS-P2A-EGFP-Bla	1μg/100μg
D2808	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla	1μg/100μg
D2809	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla	1μg/100μg
D2810	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1μg/100μg
D2811	pCMV-N-HA-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1μg/100μg
D2812	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1μg/100μg
D2813	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Zeo	1μg/100μg
D2814	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla	1μg/100μg
D2819	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Bla	1μg/100μg
D2822	pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg	1μg/100μg
D2823	pCMV-MCS-P2A-mCherry-Myc-Hyg	1μg/100μg
D2824	pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Pur	1μg/100μg
D2825	pCMV-MCS-P2A-mCherry-Myc-Pur	1μg/100μg
D2826	pCMV-MCS-P2A-mCherry-Flag-Pur	1μg/100μg
D2827	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-EGFP-Bla	1μg/100μg
D2828	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Zeo	1μg/100μg
D2829	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Zeo	1μg/100μg

Version 2022.03.18