

pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur

产品编号	产品名称	包装
D2803-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur	1μg
D2803-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur	100μg

产品简介:

- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur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、红色荧光蛋白mCherry和嘌呤霉素(Puromycin)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共表达红色荧光蛋白mCherry, 便于通过mCherry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。

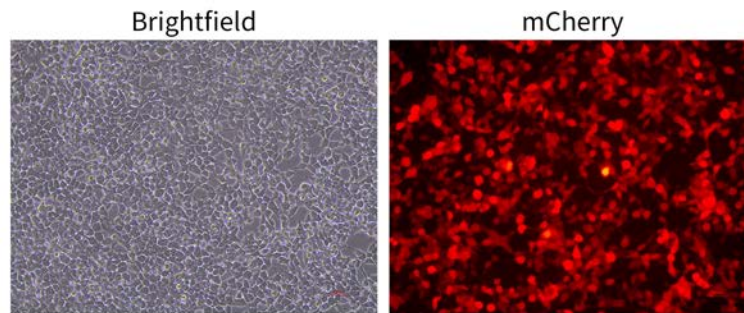
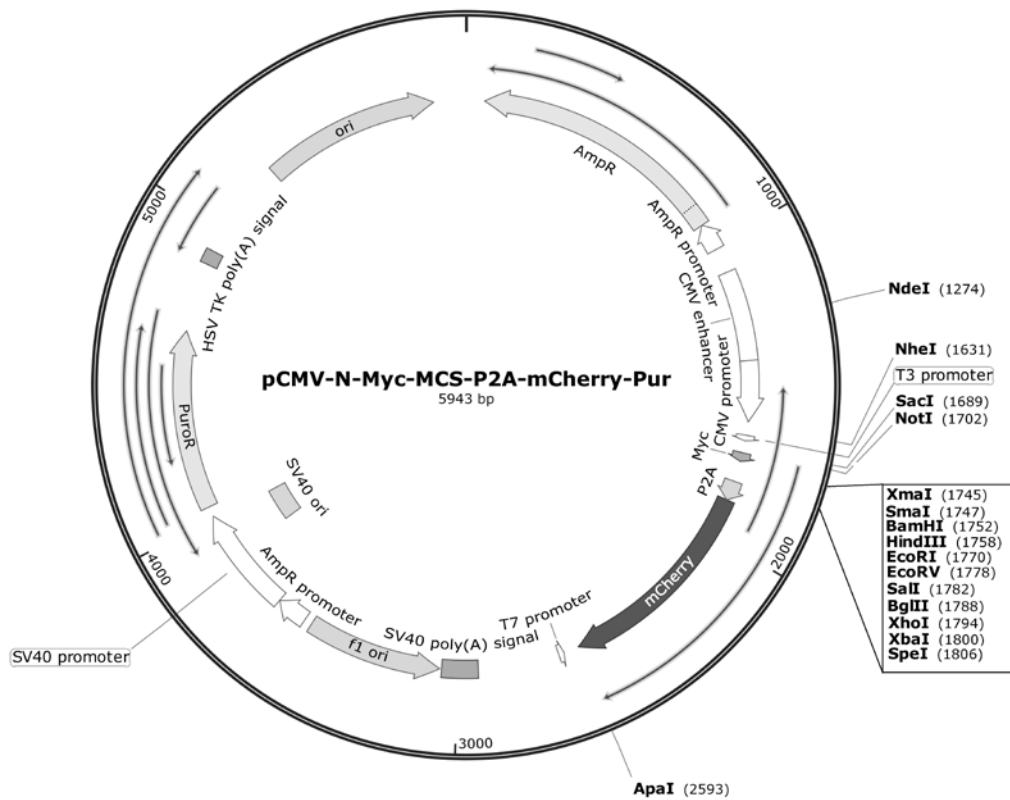


图1. 碧云天pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片, 右侧为荧光照片。本图仅供参考, 实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 本质粒在多克隆位点和mCherry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]。
- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)和嘌呤霉素(Puromycin)抗性。可利用其氨苄青霉素抗性, 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Puromycin (ST551)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
AmpR		63-923
AmpR promoter		924-1016
CMV enhancer		1101-1404
CMV promoter		1405-1608
T3 promoter		1654-1672
Myc		1713-1742
P2A		1812-1877
mCherry		1878-2588
T7 promoter		2640-2658
SV40 poly(A) signal		2932-3053
f1 ori		3060-3515
AmpR promoter		3542-3646
SV40 promoter		3648-4005
SV40 ori		3856-3991
PuroR		4040-4639

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur质粒(5943bp)的图谱如下:



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

SacI

```

1651  CGAAATTAAC CCTCACTAAA GGAACAAAA GCTGGAGCTC CACCGCGGTG
      GCTTTAATTG GGAGTGATTT CCCTTGTTTT CGACCTCGAG GTGGCGCCAC
                Myc tag
NotI  | E Q K L I S E E D L | SmaI
1701  GCGGCCGCCA TGGAGCAGAA ACTCATCTCT GAAGAGGATC TGAGCCCGGG
      CGCCGGCGGT ACCTCGTCTT TGAGTAGAGA CTTCTCCTAG ACTCGGGCCC
      BamHI HindIII      EcoRI EcoRV SalI BglII XhoI XbaI
1751  CGGATCCAAG CTTCTGCAGG AATTTCGATAT CGTCGACAGA TCTCTCGAGT
      GCCTAGGTTT GAAGACGTCC TTAAGCTATA GCAGCTGTCT AGAGAGCTCA
                P2A sequence
      SpeI  G S G | A T N F S L L K Q A |
1801  CTAGAACTAG TGGAAGCGGA GCTACTAACT TCAGCCTGCT GAAGCAGGCT
      GATCTTGATC ACCTTCGCCT CGATGATTGA AGTCGGACGA CTTCGTCCGA

      G D V E E N P G P | mCherry sequence
1851  GGAGACGTGG AGGAGAACCC TGGACCTATG GTGAGCAAGG GCGAGGAGGA
      CCTCTGCACC TCCTCTGGG ACCTGGATAC CACTCGTTCC CGCTCCTCCT

1901  TAACATGGCC ATCATCAAGG AGTTCATGCG CTTCAAGGTG CACATGGAGG
      ATTGTACCGG TAGTAGTTCC TCAAGTACGC GAAGTTCCAC GTGTACCTCC

1951  GCTCCGTGAA CGGCCACGAG TTCGAGATCG AGGGCGAGGG CGAGGGCCGC
      CGAGGCACTT GCCGGTGCTC AAGCTCTAGC TCCCCTCCC GCTCCCGGCG

2001  CCCTACGAGG GCACCCAGAC CGCCAAGCTG AAGGTGACCA AGGGTGGCCC
      GGGATGCTCC CGTGGGTCTG GCGGTTGCAC TTCCACTGGT TCCCACCGGG
    
```

2051 CCTGCCCTTC GCCTGGGACA TCCTGTCCCC TCAGTTCATG TACGGCTCCA
GGACGGGAAG CGGACCCTGT AGGACAGGGG AGTCAAGTAC ATGCCGAGGT

2101 AGGCCTACGT GAAGCACCCC GCCGACATCC CCGACTACTT GAAGCTGTCC
TCCGGATGCA CTTCGTGGGG CGGCTGTAGG GGCTGATGAA CTTCGACAGG

2151 TTCCCCGAGG GCTTCAAGTG GGAGCGCGTG ATGAACTTCG AGGACGGCGG
AAGGGGCTCC CGAAGTTCAC CCTCGCGCAC TACTTGAAGC TCCTGCCGCC

2201 CGTGGTGACC GTGACCCAGG ACTCCTCCCT GCAGGACGGC GAGTTCATCT
GCACCACTGG CACTGGGTCC TGAGGAGGGA CGTCCTGCCG CTCAAGTAGA

2251 ACAAGGTGAA GCTGCGCGGC ACCAACTTCC CCTCCGACGG CCCCCTAATG
TGTTCCACTT CGACGCGCCG TGGTTGAAGG GGAGGCTGCC GGGGCATTAC

2301 CAGAAGAAGA CCATGGGCTG GGAGGCCTCC TCCGAGCGGA TGTACCCCGA
GTCTTCTTCT GGTACCCGAC CCTCCGGAGG AGGCTCGCCT ACATGGGGCT

2351 GGACGGCGCC CTGAAGGGCG AGATCAAGCA GAGGCTGAAG CTGAAGGACG
CCTGCCGCGG GACTTCCC GC TCTAGTTCGT CTCCGACTTC GACTTCTGCT

2401 GCGGCCACTA CGACGCTGAG GTCAAGACCA CCTACAAGGC CAAGAAGCCC
CGCCGGTGAT GCTGCGACTC CAGTCTGGT GGATGTTCG GTTCTTCGGG

2451 GTGCAGCTGC CCGGCGCCTA CAACGTCAAC ATCAAGTTGG ACATCACCTC
CACGTGACG GGCCGCGGAT GTTGCAGTTG TAGTTCAACC TGTAGTGGAG

2501 CCACAACGAG GACTACACCA TCGTGGAACA GTACGAACGC GCCGAGGGCC
GGTGTGCTC CTGATGTGGT AGCACCTTGT CATGCTTGC GCGCTCCCGG

ApaI

2551 GCCACTCCAC CGGCGGCATG GACGAGCTGT ACAAGTAGGG GCCCGGTACC
CGGTGAGGTG GCCGCCGTAC CTGCTCGACA TGTTTCATCC CGGGCCATGG

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AcvI	AfeI	AflIII	AgeI	Aor51HI
AscI	AsiGI	AsiSI	BaeI	BbrPI	BfrI	BlpI
BoxI	Bpu1102I	BshTI	Bsp68I	Bsp1720I	BspQI	BspTI
BssNAI	Bst98I	Bst1107I	BstAFI	BstENI	BstPAI	BstZ17I
BtuMI	CelII	CspAI	Eco47III	Eco72I	EcoNI	FseI
FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	LguI	MauBI	MreI
MspCI	MssI	NruI	PalAI	PciSI	PI-PspI	PI-SceI
PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI	PshAI	Psp5II
PspCI	PspPPI	PspXI	PsrI	RgaI	RigI	SanDI
SapI	SfaAI	SgfI	SgrDI	SgsI	SmiI	SwaI
Vha464I	XagI					

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

AccI	GT`MK,AC	1783	MluI	A`CGCG,T	3054
ApaI	G,GGCC`C	2593	NdeI	CA`TA,TG	1274
BamHI	G`GATC,C	1752	NheI	G`CTAG,C	1631
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	2313	NotI	GC`GGCC,GC	1702
BbvCI	CC`TCA,GC	2416	Paer7I	C`TCGA,G	1794
BclI	T`GATC,A	2825	PciI	A`CATG,T	5891
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4691	PflFI	GACN`N,NGTC	4082
BglII	A`GATC,T	1788	PflMI	CCAN,NNN`NTGG	2317
BmgBI	CAC GTC	1856	PspOMI	G`GGCC,C	2589
BmtI	G,CTAG`C	1635	RsrII	CG`GWC,CG	4156

BspI	GTGCAGNNNNNNNNNNNNNNNN, NN`	2472	SacI	G, AGCT`C	1689
BsiWI	C`GTAC, G	4096	SalI	G`TCGA, C	1782
BspDI	AT`CG, AT	4008	SbfI	CC, TGCA`GG	2233
BspEI	T`CCGG, A	4153	ScaI	AGT ACT	616
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4691	SfiI	GGCCN, NNN`NGGCC	3943
BsrGI	T`GTAC, A	2578	SgrAI	CR`CCGG, YG	2559
BssHII	G`CGCG, C	4495	SmaI	CCC GGG	1747
BstBI	TT`CG, AA	4655	SnaBI	TAC GTA	1380
BstXI	CCAN, NNNN`NTGG	1697	SpeI	A`CTAG, T	1806
ClaI	AT`CG, AT	4008	SrfI	GCCC GGGC	1747
CspCI	, NN`(N) ₁₁ CAANNNNNGTGG(N) ₁₀ , NN`	1416	TspMI	C`CCGG, G	1745
Eco53kI	GAG CTC	1687	Tth111I	GACN`N, NGTC	4082
EcoRI	G`AATT, C	1770	XbaI	T`CTAG, A	1800
EcoRV	GAT ATC	1778	XcmI	CCANNNN, N`NNNNTGG	2564
HindIII	A`AGCT, T	1758	XhoI	C`TCGA, G	1794
HpaI	GTT AAC	2931	XmaI	C`CCGG, G	1745
MfeI	C`AATT, G	2918	XmnI	GAANN NNTTC	735

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur质粒中对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mCherry primer的序列如下：

T3 primer (1654-1672): 5' AATTAACCCTCACTAAAGG 3'

mCherry primer (1880-1896): 5' CCTCGCCCTTGCTCACC 3'

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur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
D2803-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur	1μg
D2803-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur	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-mCherry-Pur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
ST551-10mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml×1ml
ST551-50mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	10mg/ml×5ml
ST551-250mg	Puromycin Dihydrochloride (嘌呤霉素)	250mg
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
D2757	pCMV-N-Myc-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
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 2022.03.21