

## pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla

产品编号	产品名称	包装
D2808-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla	1μg
D2808-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla	100μg

### 产品简介:

- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla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和灭瘟素S (Blasticidin S)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。

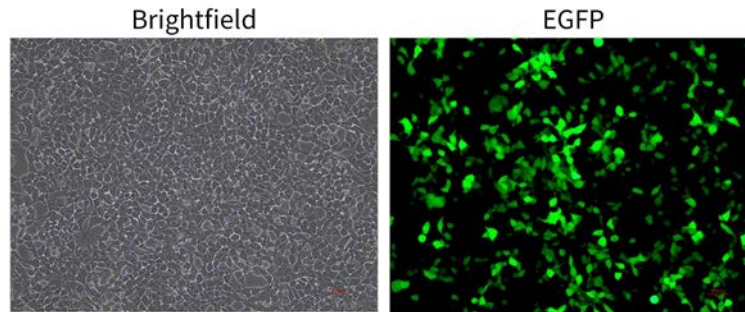
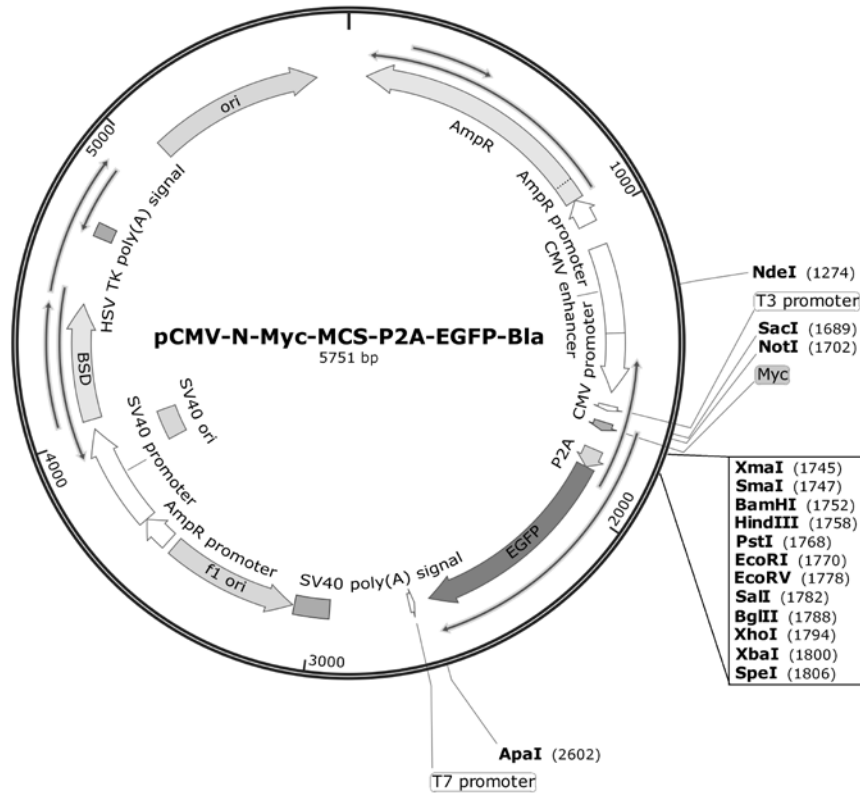


图1. 碧云天pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片，右侧为荧光照片。本图仅供参考，实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 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]。
- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)和灭瘟素S (Blasticidin S)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Blasticidin S (ST018)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla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
EGFP	1878-2597
T7 promoter	2649-2667
SV40 poly(A) signal	2941-3062
f1 ori	3069-3524
AmpR promoter	3551-3655
SV40 promoter	3657-4014
SV40 ori	3865-4000
BSD	4049-4447
HSV TK poly(A) signal	4679-4726

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla质粒(5751bp)的图谱如下:



➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla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                               SmaI
NotI  | E  Q  K  L  I  S  E  E  D  L  | XmaI
1701  GCGGCCGCCA TGGAGCAGAA ACTCATCTCT GAAGAGGATC TGAGCCCGGG
      CGCCGCGGGT ACCTCGTCTT TGAGTAGAGA CTTCTCCTAG ACTCGGGCCC
                PstI
      BamHI HindIII      EcoRI EcoRV SalI BglII XhoI
1751  CGGATCCAAG CTTCTGCAGG AATTCGATAT CGTCGACAGA TCTCTCGAGT
      GCCTAGGTTC GAAGACGTCC TTAAGCTATA GCAGCTGTCT AGAGAGCTCA
                P2A sequence
XbaI SpeI  G  S  G  | A  T  N  F  S  L  L  K  Q  A
1801  CTAGAACTAG TGAAGCGGA GCTACTAACT TCAGCCTGCT GAAGCAGGCT
      GATCTTGATC ACCTTCGCCT CGATGATTGA AGTCGGACGA CTTCGTCCGA

      G  D  V  E  E  N  P  G  P  | EGFP sequence
1851  GGAGACGTGG AGGAGAACCC TGGACCTATG GTGAGCAAGG GCGAGGAGCT
      CCTCTGCACC TCCTCTTGGG ACCTGGATAC CACTCGTTCC CGCTCCTCGA

1901  GTTACCAGGG GTGGTGCCCA TCCTGGTCTGA GCTGGACGGC GACGTAAACG
      CAAGTGGCCC CACCACGGGT AGGACCAGCT CGACCTGCCG CTGCATTTGC

1951  GCCACAAGTT CAGCGTGTCC GGCGAGGGCG AGGGCGATGC CACCTACGGC
      CGGTGTTCAA GTCGCACAGG CCGTCCCAGC TCCCGCTACG GTGGATGCCG

2001  AAGCTGACCC TGAAGTTCAT CTGCACCACC GGCAAGCTGC CCGTGCCCTG
      TTCGACTGGG ACTTCAAGTA GACGTGGTGG CCGTTCGACG GGCACGGGAC
  
```

2051 GCCCACCTC GTGACCACCC TGACCTACGG CGTGCAGTGC TTCAGCCGCT  
CGGGTGGGAG CACTGGTGGG ACTGGATGCC GCACGTCACG AAGTCGGCGA

2101 ACCCCGACCA CATGAAGCAG CACGACTTCT TCAAGTCCGC CATGCCCCGAA  
TGGGGCTGGT GTAGTTCGTC GTGCTGAAGA AGTTCAGGCG GTACGGGCTT

2151 GGCTACGTCC AGGAGCGCAC CATCTTCTTC AAGGACGACG GCAACTACAA  
CCGATGCAGG TCCTCGCGTG GTAGAAGAAG TTCCTGCTGC CGTTGATGTT

2201 GACCCGCGCC GAGGTGAAGT TCGAGGGCGA CACCCTGGTG AACCGCATCG  
CTGGGCGCGG CTCCACTTCA AGCTCCCGCT GTGGGACCAC TTGGCGTAGC

2251 AGCTGAAGGG CATCGACTTC AAGGAGGACG GCAACATCCT GGGGCACAAG  
TCGACTTCCC GTAGCTGAAG TTCCTCCTGC CGTTGTAGGA CCCCCTGTTC

2301 CTGGAGTACA ACTACAACAG CCACAACGTC TATATCATGG CCGACAAGCA  
GACCTCATGT TGATGTTGTC GGTGTTGCAG ATATAGTACC GGCTGTTGCT

2351 GAAGAACGGC ATCAAGGTGA ACTTCAAGAT CCGCCACAAC ATCGAGGACG  
CTTCTTGCCG TAGTTCCACT TGAAGTCTA GGCGGTGTTG TAGCTCCTGC

2401 GCAGCGTGCA GCTCGCCGAC CACTACCAGC AGAACACCCC CATCGGCGAC  
CGTCGCACGT CGAGCGGCTG GTGATGGTCG TCTTGTGGGG GTAGCCGCTG

2451 GGCCCCGTGC TGCTGCCCCG CAACCACTAC CTGAGCACCC AGTCCGCCCT  
CCGGGGCACG ACGACGGGCT GTTGGTGATG GACTCGTGGG TCAGGCGGGA

2501 GAGCAAAGAC CCCAACGAGA AGCGCGATCA CATGGTCCTG CTGGAGTTCG  
CTCGTTTCTG GGGTTGCTCT TCGCGTAGT GTACCAGGAC GACCTCAAGC

2551 TGACCGCCGC CGGGATCACT CTCGGCATGG ACGAGCTGTA CAAGTAAGGG  
ACTGGCGGCG GCCCTAGTGA GAGCCGTACC TGCTCGACAT GTTCATTCCC

2601 CCCGGTACCT TAATTAATTA AGGTACCAGG TAAGTGTACC CAATTGCCCC  
GGCCATGGA ATTAATTAAT TCCATGGTCC ATTCACATGG GTTAAGCGGG

ApaI

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

AarI	AbsI	AccIII	AccB7I	AcvI	AfeI	AflII
AgeI	Aor13HI	Aor51HI	AscI	AsiGI	AsiSI	AspI
BaeI	BbeI	BbrPI	BbvCI	BfrI	BoxI	BseAI
BsePI	BshTI	BsiWI	Bsp13I	BspEI	BspQI	BspTI
BssHII	BssNAI	Bst98I	Bst1107I	BstAFI	BstEII	BstENI
BstPI	BstPAI	BstZ17I	CpoI	CspI	CspAI	DinI
Eco47III	Eco72I	Eco91I	EcoNI	EcoO65I	EgeI	EheI
FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KasI	Kpn2I
LguI	MauBI	Mly113I	MreI	MroI	MspCI	MssI
NarI	PalAI	PauI	PciSI	Pfl23II	PflFI	PflMI
PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PluTI	PmaCI	PmeI	PmlI
PshAI	PspCI	PspEI	PspLI	PspXI	PsrI	PsyI
RgaI	RigI	RsrII	Rsr2I	SanDI	SapI	SbfI
SdaI	SfaAI	SfoI	SgfI	SgrAI	SgrDI	SgsI
SmiI	Sse8387I	SspDI	SwaI	Tth111I	Van91I	Vha464I
XagI	XcmI					

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

AccI	GT`MK,AC	1783	MluI	A`CGCG,T	3063
AhdI	GACNN,N`NNGTC	136	MscI	TGG CCA	4052
ApaI	G,GGCC`C	2602	NdeI	CA`TA,TG	1274
BamHI	G`GATC,C	1752	NheI	G`CTAG,C	1631
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	4134	NotI	GC`GGCC,GC	1702

BclI	T`GATC,A	2834	NruI	TCG CGA	4280
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4499	Paer7I	C`TCGA,G	1794
BglII	A`GATC,T	1788	PciI	A`CATG,T	5699
BlpI	GC`TNA,GC	4444	PpuMI	RG`GWC,CY	4208
BmgBI	CAC GTC	1856	PspOMI	G`GGCC,C	2598
BmtI	G,CTAG`C	1635	PstI	C,TGCA`G	1768
BsaXI	,NNN`(N) <sub>9</sub> ACNNNNNC`TCC(N) <sub>7</sub> ,NNN`	3227	SacI	G,AGCT`C	1689
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	1846	SacII	CC,GC`GG	1696
BspDI	AT`CG,AT	4017	SalI	G`TCGA,C	1782
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4499	ScaI	AGT ACT	616
BsrGI	T`GTAC,A	2587	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3952
BstBI	TT`CG,AA	4463	SmaI	CCC GGG	1747
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1697	SnaBI	TAC GTA	1380
ClaI	AT`CG,AT	4017	SpeI	A`CTAG,T	1806
DraIII	CAC,NNN`GTG	3293	SrfI	GCCC GGGC	1747
Eco53kI	GAG CTC	1687	StuI	AGG CCT	3998
EcoRI	G`AATT,C	1770	TspMI	C`CCGG,G	1745
EcoRV	GAT ATC	1778	XbaI	T`CTAG,A	1800
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	1846	XhoI	C`TCGA,G	1794
HindIII	A`AGCT,T	1758	XmaI	C`CCGG,G	1745
HpaI	GTT AAC	2940	XmnI	GAANN NNTTC	735
MfeI	C`AATT,G	2927			

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla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EGFP primer的序列如下：

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

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

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla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
D2808-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla	1μg
D2808-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla	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-Bla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
ST018-10mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg
ST018-1ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×1ml

ST018-50mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	50mg
ST018-5ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×5ml
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
D2803	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur	1μg/100μg
D2807	pCMV-N-HA-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