



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-168-3301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## pCMV-GFP-p62

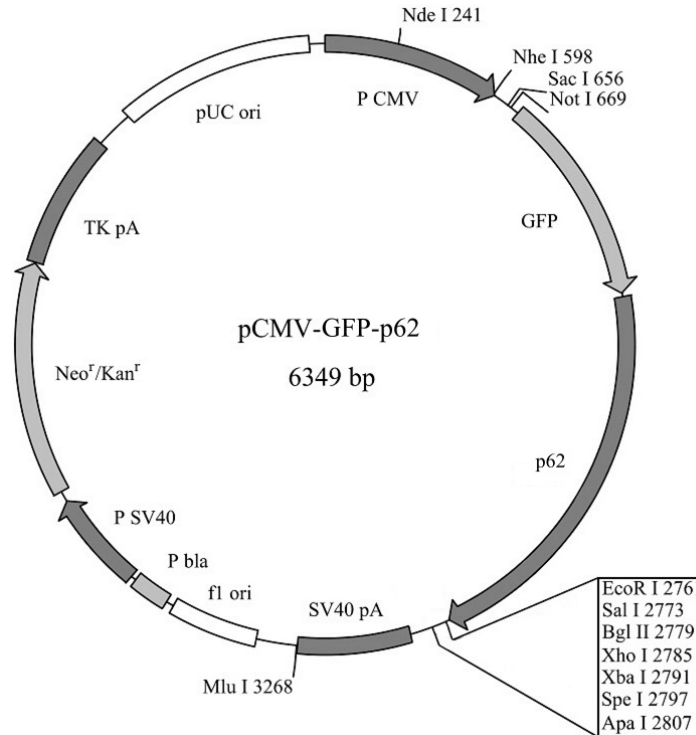
产品编号	产品名称	包装
D2817-1μg	pCMV-GFP-p62	1μg
D2817-100μg	pCMV-GFP-p62	100μg

### 产品简介:

- pCMV-GFP-p62是碧云天自行研发的在哺乳动物细胞中表达GFP标签的人源p62融合蛋白的质粒, 该质粒含有CMV启动子, 为卡那霉素抗性, 转染细胞后能够在靶细胞中高效表达绿色荧光蛋白GFP标签的p62融合蛋白, 呈现明亮的绿色荧光, 可以用于细胞自噬(autophagy)的研究。本质粒转染细胞后, 可以使用G418筛选稳定表达融合蛋白的细胞株。
- p62也称sequestosome 1 (SQSTM1), 在多细胞生物(不包括植物和真菌)中高度保守, 主要分布于细胞质, 也可以定位于细胞核、自噬体(autophagosome)和溶酶体(lysosome)中。p62是一种应激诱导的蛋白, 可以作为信号枢纽(signaling hub)在氨基酸感应(amino acid sensing)和氧化应激等许多细胞事件中发挥重要作用, 并且还可以作为PKC、ERK1、mTORC1、NF-κB和caspase-8等的支架蛋白(scaffold protein)而参与相应的信号转导。p62全长440个氨基酸, 包含一个PB1(Phox1/Bem1p)结构域, 一个锌指结构域(ZZ), 两个核定位信号(NLS1和NLS2), 一个TB (TRAF6 binding)结构域, 一个LIR结构域(LC3-interacting region), 一个KIR结构域(Keap1-interacting region), 和一个C端的UBA(Ubiquitin-associated)结构域。N端的PB1结构域负责p62寡聚化以及与其它含PB1结构域的蛋白相互作用。UBA结构域对于寡聚化的p62形成蛋白聚集体是必须的, 特别是当细胞暴露于氧化环境中, 其作为信号组织中心负责招募泛素化修饰的蛋白底物。作为支架蛋白, p62通过其UBA结构域与蛋白聚集体(protein aggregate)相结合并将其导向自噬体从而将其降解。LIR结构域含有一个富含酸性氨基酸和疏水氨基酸的簇(DDD和WxxL), 该酸性簇和LIR结构域的其他两个关键氨基酸Trp338/Leu341可与LC3蛋白中的多个位点(N端的碱性氨基酸以及LC3的ubiquitin fold表面的两个疏水口袋)相互作用。LIR结构域与Atg8/LC3的相互作用负责引导泛素化的蛋白到蛋白酶体(proteasome)或自噬体中降解。p62与LC3的荧光共定位和在免疫共沉淀实验过程中被一起沉淀(pull down), 说明它们参与了自噬过程中同一蛋白复合物的形成。在自噬起始的时候, p62与蛋白聚集体的复合物与LC3在自噬体的表面相结合, 进而起始了蛋白聚集体的降解过程。p62与LC3蛋白的相互作用对于p62自身的自噬降解也是必须的, 抑制自噬将导致p62的大量堆积, 然后形成p62和泛素染色阳性的聚集体。Caspase-8被报道与p62相互作用, 从而起始非死亡受体依赖的细胞凋亡信号通路。p62的功能异常与人类的多种疾病紧密相关, 在肝功能紊乱, 肿瘤和多种神经退行性疾病的病人样品中发现了异常堆积的p62聚集体。p62是蛋白聚集体(protein aggregates)中的常见组分, 例如帕金森氏病(Parkinson disease)中的Lewy body, 艾滋海默病(Alzheimer's disease)的神经纤维缠结(neurofibrillary tangles), Huntingtin disease病人的huntingtin aggregates中均含有p62。在佩吉特氏骨病(Paget's disease of bone), 肌萎缩性脊髓侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis)以及额颞叶变性(frontotemporal lobar degeneration)等疾病中都有p62的突变被报道。
- 自噬(Autophagy)是一种在进化上高度保守的通过溶酶体吞噬并降解部分自身组分的细胞内分解代谢途径。自噬与多种生理功能有关, 在饥饿等不利的环境条件下, 细胞通过自噬降解多余或异常的细胞内组分, 为细胞的生存提供能量及原材料, 促进生物体的生长发育、细胞分化及对环境变化产生应答。自噬异常与多种病理过程如肿瘤、神经退行性疾病、代谢疾病、病原体感染等都有密切关系。由于细胞自噬在生理和病理过程中都有重要作用, 自噬已经成为细胞生物学领域的一个新的研究热点。
- 在用pCMV-GFP-p62转染细胞后, 荧光显微镜下GFP-p62通常以绿色点状(puncta)或较为弥散的斑块状(speckles)荧光存在于细胞质和细胞核中。在自噬被抑制的情况下, 这种绿色的点状或斑块状物其大小会变大而且数目会变多。p62的荧光标记对于自噬的诱导、自噬的抑制以及蛋白聚集体的清除都是一个非常好的研究工具。
- pCMV-GFP-p62质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
CMV promoter	1-602
T3 promoter and T3 primer binding site	620-639
GFP	699-1412
p62	1425-2747
T7 promoter and T7 primer binding site	2851-2872
SV40 polyA signal	2884-3267
f1 origin of ss-DNA replication	3405-3709
bla promoter	3734-3858
SV40 promoter	3878-4216
Neomycin/kanamycin resistance ORF	4251-5042

➤ pCMV-GFP-p62质粒(6349bp)的图谱如下:



➤ pCMV-GFP-p62表达基因的详细图谱如下:

	SacI	NotI		GFP
651	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCTCTAGC	CCGGGCGGAT CCAAGCTTAT
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGAGATCG	GGCCCGCTA GGTTCGAATA
701	GAGCAAGGGA	GAAGAACTCT	TTACTGGTGT	TGTCCCAATT CTGGTTGAGC
	CTCGTTCCCT	CTTCTTGAGA	AATGACCACA	ACAGGGTTAA GACCAACTCG
751	TGGATGGTGA	TGTGAATGGC	CACAAATCT	CTGTGTCTGG TGAAGGTGAA
	ACCTACCACT	ACACTTACCG	GTGTTTAAGA	GACACAGACC ACTTCCAATT
801	GGAGATGCAA	CTTATGGAAA	GCTGACTCTG	AAGTTCATTT GTACAACAGG
	CCTCTACGTT	GAATACCTTT	CGACTGAGAC	TCAAGTAAA CATGTTGTCC
851	AAAGCTGCCA	GTGCCTTGGC	CAACTCTGGT	GACCACCCTG ACTTATGGTG
	TTTCGACGGT	CACGGAACCG	GTTGAGACCA	CTGGTGGGAC TGAATACCAC
901	TTCAATGTTT	CAGCAGGTAC	CCTGACCACA	TGAAGCAGCA TGACTTCTTT
	AAGTTACAAA	GTCGTCCATG	GGACTGGTGT	ACTTCGTCGT ACTGAAGAAA
951	AAATCTGCAA	TGCCAGAAGG	TTATGTTTCT	GAGAGGACAA TCTTCTTTAA
	TTTAGACGTT	ACGGTCTTCC	AATACAAGTC	CTCTCCTGTT AGAAGAAATT
1001	GGATGATGGA	AATTATAAGA	CAAGGGCAGA	AGTGAAGTTT GAAGGTGATA
	CCTACTACCT	TTAATATTCT	GTTCCCGTCT	TCACTTCAAA CTTCCAATT
1051	CACTGGTTAA	CAGAATTGAG	CTGAAAGGCA	TTGATTTTAA GGAAGATGGA
	GTGACCAATT	GTCTTAACTC	GACTTTCCTG	AACTAAAATT CTTCTACCT
1101	AACATTCTGG	GTCACAAGCT	GGAGTACAAC	TATAATTCTC ACAATGTTTA
	TTGTAAGACC	CAGTGTTCTG	CCTCATGTTG	ATATTAAGAG TGTTACAAAT

1151 CATTATGGCA GATAAGCAGA GGAATGGAAT TAAGGCTAAT TTCAAGATTA  
GTAATACCGT CTATTCGTCT CTTACCTTA ATTCCGATTA AAGTTCTAAT  
  
1201 GACACAACAT TGAGGATGGA TCTGTCCAAC TGGCAGACCA TTACCAGCAG  
CTGTGTTGTA ACTCCTACCT AGACAGGTTG ACCGTCTGGT AATGGTCGTC  
  
1251 AACACCCCTA TTGGTGATGG CCCAGTTCTC CTCCCAGATA ATCACTATCT  
TTGTGGGGAT AACCACTACC GGGTCAAGAG GAGGGTCTAT TAGTGATAGA  
  
1301 CAGCACTCAA TCTGCTCTGT CCAAAGACCC TAATGAGAAA AGAGACCACA  
GTCGTGAGTT AGACGAGACA GGTTCCTGGG ATTACTCTTT TCTCTGGTGT  
  
1351 TGGTCCTCCT GGAGTTTGTG ACAGCAGCAG GAATTACTCT GGAATGGAT  
ACCAGGAGGA CCTCAAACAC TGTCGTCGTC CTTAATGAGA CCCTTACCTA  
  
p62  
1401 GAGCTGTACA AGGGAGGTGG ATCCATGGCG TCGCTCACCG TGAAGGCCTA  
CTCGACATGT TCCCTCCACC TAGGTACCGC AGCGAGTGGC ACTTCCGGAT  
  
1451 CCTTCTGGGC AAGGAGGACG CGGCGCGCGA GATTCGCCGC TTCAGCTTCT  
GGAAGACCCG TTCTCTCTGC GCCGCGCGCT CTAAGCGGCG AAGTCGAAGA  
  
1501 GCTGCAGCCC CGAGCCTGAG GCGGAAGCCG AGGCTGCGGC GGGTCCGGGA  
CGACGTCGGG GCTCGGACTC CGCCTTCGGC TCCGACGCGG CCCAGGCCCT  
  
1551 CCCTGCGAGC GGCTGCTGAG CCGGGTGGCC GCCCTGTTCC CCGCGCTGCG  
GGGACGCTCG CCGACGACTC GGCCACCGG CGGGACAAGG GGC GCGACGC  
  
1601 GCCTGGCGGC TTCCAGGCGC ACTACCGCGA TGAGGACGGG GACTTGGTTG  
CGGACCGCCG AAGGTCCGCG TGATGGCGCT ACTCCTGCCC CTGAACCAAC  
  
1651 CCTTTTCCAG TGACGAGGAA TTGACAATGG CCATGTCCCTA CGTGAAGGAT  
GGAAAAGGTC ACTGCTCCTT AACTGTTACC GGTACAGGAT GCACTTCCTA  
  
1701 GACATCTTCC GAATCTACAT TAAAGAGAAA AAAGAGTGCC GGCGGGACCA  
CTGTAGAAGG CTAGATGTA ATTTCTCTTT TTTCTCACGG CCGCCCTGGT  
  
1751 CCGCCCACCG TGTGCTCAGG AGGCGCCCCG CAACATGGTG CACCCCAATG  
GGCGGGTGGC ACACGAGTCC TCCGCGGGGC GTGTACCAC GTGGGGTTAC  
  
1801 TGATCTGCGA TGGCTGCAAT GGGCCTGTGG TAGGAACCCG CTACAAGTGC  
ACTAGACGCT ACCGACGTTA CCCGGACACC ATCCTTGGGC GATGTTACAG  
  
1851 AGCGTCTGCC CAGACTACGA CTTGTGTAGC GTCTGCGAGG GAAAGGGCTT  
TCGACGACGG GTCTGATGCT GAACACATCG CAGACGCTCC CTTTCCGAA  
  
1901 GCACCGGGGG CACACCAAGC TCGCATTCCC CAGCCCCTTC GGGCACCTGT  
CGTGGCCCCC GTGTGGTTCG AGCGTAAGGG GTCGGGGAAG CCCGTGGACA  
  
1951 CTGAGGGCTT CTCGCACAGC CGCTGGCTCC GGAAGGTGAA ACACGGACAC  
GACTCCCGAA GAGCGTGTGCG GCGACCGAGG CCTTCCACTT TGTGCCTGTG  
  
2001 TTCGGGTGGC CAGGATGGGA AATGGGTCCA CCAGGAAACT GGAGCCCACG  
AAGCCCACCG GTCTACCTT TTACCCAGGT GGTCTTTGA CCTCGGGTGC  
  
2051 TCCTCCTCGT GCAGGGGAGG CCCGCCCTGG CCCACGGCA GAATCAGCTT  
AGGAGGAGCA CGTCCCCTCC GGGCGGGACC GGGGTGCCGT CTTAGTCGAA

2101 CTGGTCCATC GGAAGATCCG AGTGTGAATT TCCTGAAGAA CGTTGGGGAG  
GACCAGGTAG CCTTCTAGGC TCACACTTAA AGGACTTCTT GCAACCCCTC

2151 AGTGTGGCAG CTGCCCTTAG CCCTCTGGGC ATTGAAGTTG ATATCGATGT  
TCACACCGTC GACGGGAATC GGGAGACCCG TAACTTCAAC TATAGCTACA

2201 GGAGCACGGA GGGAAAAGAA GCCGCCTGAC CCCCCTCTCT CCAGAGAGTT  
CCTCGTGCCT CCCTTTTCTT CGGCGGACTG GGGCAGAGA GGTCTCTCAA

2251 CCAGCACAGA GGAGAAGAGC AGCTCACAGC CAAGCAGCTG CTGCTCTGAC  
GGTCGTGTCT CCTCTTCTCG TCGAGTGTG GTTCGTGAC GACGAGACTG

2301 CCCAGCAAGC CGGGTGGGAA TGTTGAGGGC GCCACGCAGT CTCTGGCGGA  
GGGTCGTTTC GCCCACCTT ACAACTCCCG CGGTGCGTCA GAGACCGCCT

2351 GCAGATGAGG AAGATCGCCT TGGAGTCCGA GGGCGCCCT GAGGAACAGA  
CGTCTACTCC TTCTAGCGGA ACCTCAGGCT CCCCAGGGA CTCCTTGTCT

2401 TGGAGTCGGA TAACTGTTC A GGAGGAGATG ATGACTGGAC CCATCTGTCT  
ACCTCAGCCT ATTGACAAGT CCTCCTCTAC TACTGACCTG GGTAGACAGA

2451 TCAAAAGAAG TGGACCCGTC TACAGGTGAA CTCCAGTCCC TACAGATGCC  
AGTTTTCTTC ACCTGGGCAG ATGTCCACTT GAGGTCAGGG ATGTCTACGG

2501 AGAATCCGAA GGGCCAAGCT CTCTGGACCC CTCCAGGAG GGACCCACAG  
TCTTAGGCTT CCCGGTTCGA GAGACCTGGG GAGGGTCTC CCTGGGTGTC

2551 GGCTGAAGGA AGCTGCCTTG TACCCACATC TCCGCCAGA GGCTGACCCG  
CCGACTTCCT TCGACGGAAC ATGGGTGTAG AGGGCGGTCT CCGACTGGGC

2601 CGGCTGATTG AGTCCCTCTC CCAGATGCTG TCCATGGGCT TCTCTGATGA  
GCCGACTAAC TCAGGGAGAG GGTCTACGAC AGGTACCCGA AGAGACTACT

2651 AGGCGGCTGG CTCACCAGGC TCCTGCAGAC CAAGAACTAT GACATCGGAG  
TCCGCCGACC GAGTGGTCCG AGGACGTCTG GTTCTTGATA CTGTAGCCTC

2701 CGGCTCTGGA CACCATCCAG TATTCAAAGC ATCCCCGCC GTTGTGAAAG  
GCCGAGACCT GTGGTAGGTC ATAAGTTTCG TAGGGGGCGG CAACACTTTC

EcoRI SalI BglII XhoI XbaI SpeI

2751 CTTCTGCAGG AATTCGATAT CGTCGACAGA TCTCTCGAGT CTAGAACTAG  
GAAGACGTCC TTAAGCTATA GCAGCTGTCT AGAGAGCTCA GATCTTGATC

ApaI

2801 TGGGCCCGGT ACCTTAATTA ATTAAGGTAC CAGGTAAGTG TACCCAATTC  
ACCCGGGCCA TGAATTAAT TAATTCCATG GTCCATTAC ATGGGTAAAG

➤ pCMV-GFP-p62中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pCMV-GFP-p62)包括:

AfeI	AflII	AgeI	AhdI	AscI	AsiSI	BbvCI
BcgI	BsiWI	BstZ17I	FseI	NruI	PflMI	PmeI
PmlI	PspXI	SbfI	ScaI	SgrAI	SwaI	XmnI

➤ pCMV-GFP-p62中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pCMV-GFP-p62 once)包括:

NdeI	CA' TA, TG	240	EarI	CTCTTCN' NNN,	2259
SnaBI	TAC GTA	346	BspQI	GCTCTTCN' NNN,	2259
NheI	G' CTAG, C	597	BbsI	GAAGACNN' NNNN,	2440
BmtI	G, CTAG' C	601	EcoRI	G' AATT, C	2760
Eco53kI	GAG CTC	653	SalI	G' TCGA, C	2772
SacI	G, AGCT' C	655	BglII	A' GATC, T	2778
AleI	CACNN NNGTG	661	XhoI	C' TCGA, G	2784
NotI	GC' GGCC, GC	668	Paer7I	C' TCGA, G	2784
TspMI	C' CCGG, G	680	XbaI	T' CTAG, A	2790

XmaI	C' CCGG, G	680	SpeI	A' CTAG, T	2796
SmaI	CCC   GGG	682	PspOMI	G' GGCC, C	2802
SrfI	GCCC   GGGC	682	ApaI	G, GGCC' C	2806
BstEII	G' GTNAC, C	878	PvuI	CG, AT' CG	2884
BaeI	, (N) <sub>5</sub> ' (N) <sub>10</sub> ACNNNNGTAYC (N) <sub>7</sub> , (N) <sub>5</sub>	1039+1072	BclI	T' GATC, A	3038
BssHII	G' CGCG, C	1473	MfeI	C' AATT, G	3131
BlpI	GC' TNA, GC	1566	BtsI	GCAGTG, NN'	3220
BspEI	T' CCGG, A	1978	MluI	A' CGCG, T	3267
BmgBI	CAC   GTC	2049	SfiI	GGCCN, NNN' NGGCC	4154
AclI	AA' CG, TT	2140	Tth111I	GACN' N, NGTC	4497
PshAI	GACNN   NNGTC	2232	PflFI	GACN' N, NGTC	4497
BsmBI	CGTCTCN' NNNN,	2240	RsrII	CG' GWC, CG	4895
Esp3I	CGTCTCN' NNNN,	2240	BstBI	TT' CG, AA	5061
SapI	GCTCTCN' NNN,	2259	PciI	A' CATG, T	6297

➤ pCMV-GFP-p62质粒中推荐使用的测序引物序列如下：

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

T7 primer (2851-2872): 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3'

➤ pCMV-GFP-p62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
D2817-1μg	pCMV-GFP-p62	1μg
D2817-100μg	pCMV-GFP-p62	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。

**相关产品：**

产品编号	产品名称	包装
D2602-1μg	pCMV-Blank	1μg
D2602-100μg	pCMV-Blank	100μg
D2621-1μg	pCMV-C-BFP (蓝色荧光蛋白)	1μg
D2621-100μg	pCMV-C-BFP (蓝色荧光蛋白)	100μg
D2623-1μg	pCMV-C-CFP (青色荧光蛋白)	1μg
D2623-100μg	pCMV-C-CFP (青色荧光蛋白)	100μg
D2624-1μg	pCMV-C-DsRed (红色荧光蛋白)	1μg
D2624-100μg	pCMV-C-DsRed (红色荧光蛋白)	100μg
D2626-1μg	pCMV-C-EGFP (绿色荧光蛋白)	1μg
D2626-100μg	pCMV-C-EGFP (绿色荧光蛋白)	100μg
D2628-1μg	pCMV-C-mCherry (红色荧光蛋白)	1μg
D2628-100μg	pCMV-C-mCherry (红色荧光蛋白)	100μg
D2630-1μg	pCMV-C-YFP (黄色荧光蛋白)	1μg
D2630-100μg	pCMV-C-YFP (黄色荧光蛋白)	100μg
D2632-1μg	pCMV-C-Flag	1μg
D2632-100μg	pCMV-C-Flag	100μg
D2639-1μg	pCMV-C-HA	1μg
D2639-100μg	pCMV-C-HA	100μg

D2650-1μg	pCMV-C-His	1μg
D2650-100μg	pCMV-C-His	100μg
D2672-1μg	pCMV-C-Myc	1μg
D2672-100μg	pCMV-C-Myc	100μg
D2701-1μg	pCMV-N-BFP (蓝色荧光蛋白)	1μg
D2701-100μg	pCMV-N-BFP (蓝色荧光蛋白)	100μg
D2703-1μg	pCMV-N-CFP (青色荧光蛋白)	1μg
D2703-100μg	pCMV-N-CFP (青色荧光蛋白)	100μg
D2705-1μg	pCMV-N-DsRed (红色荧光蛋白)	1μg
D2705-100μg	pCMV-N-DsRed (红色荧光蛋白)	100μg
D2707-1μg	pCMV-N-EGFP (绿色荧光蛋白)	1μg
D2707-100μg	pCMV-N-EGFP (绿色荧光蛋白)	100μg
D2711-1μg	pCMV-N-mCherry (红色荧光蛋白)	1μg
D2711-100μg	pCMV-N-mCherry (红色荧光蛋白)	100μg
D2716-1μg	pCMV-N-YFP (黄色荧光蛋白)	1μg
D2716-100μg	pCMV-N-YFP (黄色荧光蛋白)	100μg
D2722-1μg	pCMV-N-Flag	1μg
D2722-100μg	pCMV-N-Flag	100μg
D2733-1μg	pCMV-N-HA	1μg
D2733-100μg	pCMV-N-HA	100μg
D2737-1μg	pCMV-N-His	1μg
D2737-100μg	pCMV-N-His	100μg
D2756-1μg	pCMV-N-Myc	1μg
D2756-100μg	pCMV-N-Myc	100μg
D2815-1μg	pCMV-GFP-LC3B	1μg
D2815-100μg	pCMV-GFP-LC3B	100μg
D2816-1μg	pCMV-mCherry-GFP-LC3B	1μg
D2816-100μg	pCMV-mCherry-GFP-LC3B	100μg
D2817-1μg	pCMV-GFP-p62	1μg
D2817-100μg	pCMV-GFP-p62	100μg
D2818-1μg	pCMV-mCherry-p62	1μg
D2818-100μg	pCMV-mCherry-p62	100μg

Version 2019.08.21