

## pCMV-mCherry-p62

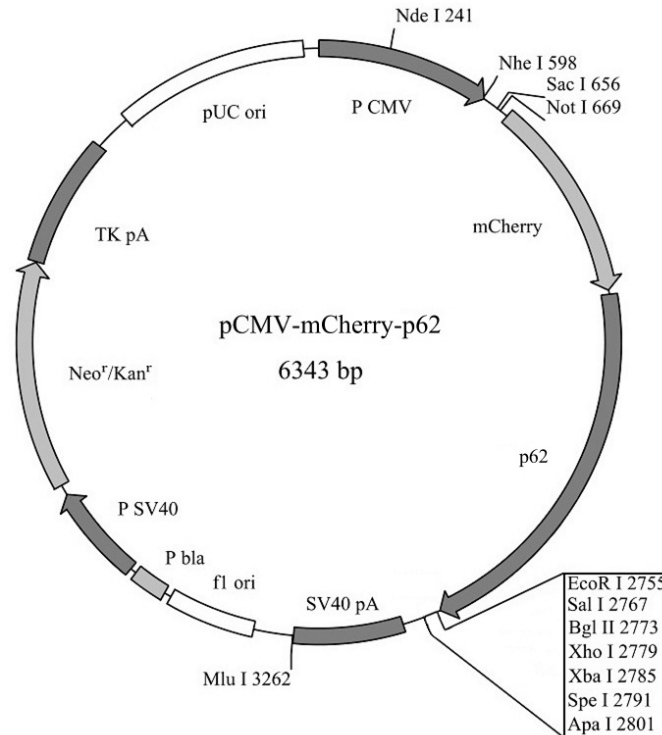
产品编号	产品名称	包装
D2818-1μg	pCMV-mCherry-p62	1μg
D2818-100μg	pCMV-mCherry-p62	100μg

### 产品简介:

- pCMV-mCherry-p62是碧云天研发的在哺乳动物细胞中表达红色mCherry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,转染后能够在靶细胞中高效表达带有红色荧光蛋白mCherry标签的p62融合蛋白,呈现明亮的红色荧光,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-mCherry-p62转染细胞后,荧光显微镜下mCherry-p62通常以红色点状(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,这种红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-mCherry-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
mCherry	699-1406
p62	1419-2741
T7 promoter and T7 primer binding site	2845-2866
SV40 polyA signal	2878-3261
f1 origin of ss-DNA replication	3399-3703
bla promoter	3728-3852
SV40 promoter	3872-4210
Neomycin/kanamycin resistance ORF	4245-5036

➤ pCMV-mCherry-p62质粒(6343bp)的图谱如下:



➤ pCMV-mCherry-p62表达基因的详细图谱如下:

	SalI	NotI		mCherry
651	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCTCTAGC	CCGGGCGGAT CCAAGCTTAT
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGAGATCG	GGCCCGCTA GGTTCGAATA
701	GGTGAGCAAG	GGCGAGGAGG	ATAACATGGC	CATCATCAAG GAGTTCATGC
	CCACTCGTTC	CCGCTCCTCC	TATTGTACCG	GTAGTAGTTC CTCAAGTACG
751	GCTTCAAGGT	GCACATGGAG	GGCTCCGTGA	ACGGCCACGA GTTCGAGATC
	CGAAGTTCCA	CGTGTACCTC	CCGAGGCACT	TGCCGGTGCT CAAGCTCTAG
801	GAGGGCGAGG	GCGAGGGCCG	CCCCTACGAG	GGCACCCAGA CCGCCAAGCT
	CTCCCCTCC	CGCTCCCAGC	GGGGATGCTC	CCGTGGGTCT GGCGGTTCTGA
851	GAAGGTGACC	AAGGGTGGCC	CCCTGCCCTT	CGCTGGGAC ATCCTGTCCC
	CTTCCACTGG	TTCCACCGG	GGGACGGGAA	GCGGACCCTG TAGGACAGGG
901	CTCAGTTCAT	GTACGGCTCC	AAGGCCTACG	TGAAGCACCC CGCCGACATC
	GAGTCAAGTA	CATGCCGAGG	TTCCGGATGC	ACTTCGTGGG GCGGCTGTAG
951	CCCRACTACT	TGAAGCTGTC	CTTCCCCGAG	GGCTTCAAGT GGGAGCGCGT
	GGGCTGATGA	ACTTCGACAG	GAAGGGGCTC	CCGAAGTTCA CCCTCGCGCA
1001	GATGAACTTC	GAGGACGGCG	GCGTGGTGAC	CGTGACCCAG GACTCCTCCC
	CTACTTGAAG	CTCCTGCCGC	CGCACCCTG	GCACTGGGTC CTGAGGAGGG
1051	TGCAGGACGG	CGAGTTCATC	TACAAGGTGA	AGCTGCGCGG CACCAACTTC
	ACGTCCTGCC	GCTCAAGTAG	ATGTTCCACT	TCGACGCGCC GTGGTTGAAG
1101	CCCTCCGACG	GCCCCGTAAT	GCAGAAGAAG	ACCATGGGCT GGGAGGCCTC
	GGGAGGCTGC	CGGGGCATTA	CGTCTTCTTC	TGGTACCCGA CCCTCCGGAG

1151 CTCCGAGCGG ATGTACCCCG AGGACGGCGC CCTGAAGGGC GAGATCAAGC  
 GAGGCTCGCC TACATGGGGC TCCTGCCGCG GGA CTCTAGTTCC

1201 AGAGGCTGAA GCTGAAGGAC GGC GGCCACT ACGACGCTGA GGTCAAGACC  
 TCTCCGACTT C GACTTCTCTG CCGCCGGTGA TGCTGCGACT CCAGTTCTGG

1251 ACCTACAAGG CCAAGAAGCC CGTGCAGCTG CCCGGCGCCT ACAACGTCAA  
 TGGATGTTCC GGTTCCTTCGG GCACGTCGAC GGGCCGCGGA TGTTGCAGTT

1301 CATCAAGTTG GACATCACCT CCCACAACGA GGA CTACACC ATCGTGGAAC  
 GTAGTTCAAC CTGTAGTGGA GGGTGTGCT CCTGATGTGG TAGCACCTTG

1351 AGTACGAACG CGCCGAGGGC CGCCACTCCA CCGGCGGCAT GGACGAGCTG  
 TCATGCTTGC GCGGCTCCCG GCGGTGAGGT GGGCCCGTA CCTGCTCGAC

p62

1401 TACAAGGGAG GTGGATCCAT GGC GTGCTC ACCGTGAAGG CCTACCTTCT  
 ATGTTCCCTC CACCTAGGTA CCGCAGCGAG TGGCACTTCC GGATGGAAGA

1451 GGGCAAGGAG GACCGGGCGC GCGAGATTCG CCGCTTCAGC TTCTGCTGCA  
 CCCGTTCCCTC CTGCGCCGCG CGCTCTAAGC GCGAAGTCG AAGACGACGT

1501 GCCCCGAGCC TGAGGCGGAA GCCGAGGCTG CCGCGGGTCC GGGACCTTGC  
 CGGGGCTCGG ACTCCGCCTT CGGCTCCGAC GCCGCCAGG CCCTGGGACG

1551 GAGCGGCTGC TGAGCCGGGT GGCCGCCCTG TTCCCCGCGC TGCGGCCTGG  
 CTCGCCGACG ACTCGGCCCA CCGGCGGGAC AAGGGGCGCG ACGCCGGACC

1601 CGGCTTCCAG GCGCACTACC GCGATGAGGA CGGGGACTTG GTTGCCTTTT  
 GCCGAAGGTC CCGGTGATGG CGCTACTCCT GCCCTGAAC CAACGGAAAA

1651 CCAGTGACGA GGAATTGACA ATGGCCATGT CCTACGTGAA GGATGACATC  
 GGTCACTGCT CCTTAACTGT TACCGGTACA GGATGCACTT CCTACTGTAG

1701 TTCCGAATCT ACATTAAGA GAAAAAAGAG TGCCGGCGGG ACCACCGCCC  
 AAGGCTTAGA TGTAATTTCT CTTTTTCTC ACGGCCGCC TGGTGGCGGG

1751 ACCGTGTGCT CAGGAGGGCG CCCGCAACAT GGTGCACCCC AATGTGATCT  
 TGGCACACGA GTCTCCGCG GGGCGTTGTA CCACGTGGGG TTACTAGTA

1801 GCGATGGCTG CAATGGGCTT GTGGTAGGAA CCGCTACAA GTGCAGCGTC  
 CGCTACCGAC GTTACCCGGA CACCATCCTT GGGCGATGTT CACGTCGCAG

1851 TGCCAGACT ACGACTTGTG TAGCGTCTGC GAGGGAAAGG GCTTGCACCG  
 ACGGCTCTGA TGCTGAACAC ATCGCAGACG CTCCCTTCC CGAACGTGGC

1901 GGGGCACACC AAGCTCGCAT TCCCAGCCC CTCGGGCAC CTGTCTGAGG  
 CCCCGTGTGG TTCGAGCGTA AGGGGTCGGG GAAGCCCGTG GACAGACTCC

1951 GCTTCTCGCA CAGCCGCTGG CTCCGGAAGG TGAAACACGG AACTTCCGGG  
 CGAAGAGCGT GTCGGCGACC GAGGCCTTCC ACTTGTGCC TGTGAAGCCC

2001 TGGCCAGGAT GGGAAATGGG TCCACCAGGA AACTGGAGCC CACGTCCTCC  
 ACCGGTCCTA CCCTTACC CAGGTGGTCTT TGACCTCGG GTGCAGGAGG

2051 TCGTGCAGGG GAGGCCCGCC CTGGCCCCAC GGCAGAATCA GCTTCTGGTC  
 AGCACGTCCC CTCCGGGCGG GACCGGGGTG CCGTCTTAGT CGAAGACCAG

2101 CATCGGAAGA TCCGAGTGTG AATTTCTGA AGAACGTTGG GGAGAGTGTG  
GTAGCCTTCT AGGCTCACAC TTAAAGGACT TCTTGCAACC CCTCTCACAC

2151 GCAGCTGCCC TTAGCCCTCT GGCATTGAA GTTGATATCG ATGTGGAGCA  
CGTCGACGGG AATCGGGAGA CCCGTAACCTT CAACTATAGC TACACCTCGT

2201 CGGAGGGAAA AGAAGCCGCC TGACCCCGT CTCTCCAGAG AGTTCCAGCA  
GCCTCCCTTT TCTTCGGCGG ACTGGGGGCA GAGAGGTCTC TCAAGGTCGT

2251 CAGAGGAGAA GAGCAGTCA CAGCCAAGCA GCTGCTGCTC TGACCCAGC  
GTCTCCTCTT CTCGTCGAGT GTCGGTTCGT CGACGACGAG ACTGGGGTCG

2301 AAGCCGGGTG GGAATGTTGA GGGCGCCACG CAGTCTCTGG CGGAGCAGAT  
TTCCGGCCAC CCTTACAACCT CCCGCGGTGC GTCAGAGACC GCCTCGTCTA

2351 GAGGAAGATC GCCTTGGAGT CCGAGGGGCG CCCTGAGGAA CAGATGGAGT  
CTCCTTCTAG CGGAACCTCA GGCTCCCGC GGGACTCCTT GTCTACCTCA

2401 CGGATAACTG TTCAGGAGGA GATGATGACT GGACCCATCT GTCTTCAAAA  
GCCTATTGAC AAGTCCTCTT CTACTACTGA CCTGGGTAGA CAGAAGTTTT

2451 GAAGTGGACC CGTCTACAGG TGAACCTCAG TCCCTACAGA TGCCAGAATC  
CTTCACCTGG GCAGATGTCC ACTTGAGGTC AGGGATGTCT ACGGTCTTAG

2501 CGAAGGGCCA AGCTCTCTGG ACCCCTCCCA GGAGGGACCC ACAGGGCTGA  
GCTTCCCGGT TCGAGAGACC TGGGGAGGGT CCTCCCTGGG TGTCCCGACT

2551 AGGAAGCTGC CTTGTACCCA CATCTCCCGC CAGAGGCTGA CCCGCGGCTG  
TCCTTCGACG GAACATGGGT GTAGAGGGCG GTCTCCGACT GGGCGCCGAC

2601 ATTGAGTCCC TCTCCAGAT GCTGTCCATG GGCTTCTCTG ATGAAGGCGG  
TAACTCAGGG AGAGGGTCTA CGACAGGTAC CCGAAGAGAC TACTTCCGCC

2651 CTGGCTCACC AGGCTCCTGC AGACCAAGAA CTATGACATC GGAGCGGCTC  
GACCGAGTGG TCCGAGGACG TCTGGTTCTT GATACTGTAG CCTCGCCGAG

2701 TGGACACCAT CCAGTATTCA AAGCATCCCC CGCCGTTGTG AAAGCTTCTG  
ACCTGTGGTA GGTCATAAGT TTCGTAGGGG GCGGCAACAC TTTCGAAGAC  
EcoRI SalI BglII XhoI XbaI SpeI

2751 CAGGAATTCG ATATCGTCTGA CAGATCTCTC GAGTCTAGAA CTAGTGGGCC  
GTCCTTAAGC TATAGCAGCT GTCTAGAGAG CTCAGATCTT GATCACCCGG  
ApaI

2851 CGGTACCTTA ATTAATTAAG GTACCAGGTA AGTGTAACCA ATTCGCCCTA  
GCCATGGAAT TAATTAATTC CATGGTCCAT TCACATGGGT TAAGCGGGAT

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

AfeI	AflII	AgeI	AscI	AsiSI	BaeI	BcgI
BsiWI	BstZ17I	FseI	NruI	PmeI	PmlI	PspXI
ScaI	SwaI	XmnI				

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

NdeI	CA' TA, TG	240	EarI	CTCTTCN' NNN,	2253
SnaBI	TAC GTA	346	SapI	GCTCTTCN' NNN,	2253
NheI	G' CTAG, C	597	BspQI	GCTCTTCN' NNN,	2253
BmtI	G, CTAG' C	601	EcoRI	G' AATT, C	2754
Eco53kI	GAG CTC	653	SalI	G' TCGA, C	2766
SacI	G, AGCT' C	655	BglII	A' GATC, T	2772
NotI	GC' GGCC, GC	668	XhoI	C' TCGA, G	2778
TspMI	C' CCGG, G	680	Paer7I	C' TCGA, G	2778
XmaI	C' CCGG, G	680	XbaI	T' CTAG, A	2784

SmaI	CCC GGG	682	SpeI	A'CTAG,T	2790
SrfI	GCCC GGGC	682	PspOMI	G'GGCC,C	2796
AhdI	GACNN,N'NNGTC	893	ApaI	G,GGCC'C	2800
SbfI	CC,TGCA'GG	1054	PvuI	CG,AT'CG	2878
PflMI	CCAN,NNN'NTGG	1138	BclI	T'GATC,A	3032
BbvCI	CC'TCA,GC	1237	MfeI	C'AATT,G	3125
SgrAI	CR'CCGG,YG	1380	HpaI	GTT AAC	3138
BsrGI	T'GTAC,A	1399	BtsI	GCAGTG,NN'	3214
BssHII	G'CGCG,C	1467	MluI	A'CGCG,T	3261
BlpI	GC'TNA,GC	1560	SfiI	GGCCN,NNN'NGGCC	4148
BspEI	T'CCGG,A	1972	Tth111I	GACN'N,NGTC	4491
BmgBI	CAC GTC	2043	PflFI	GACN'N,NGTC	4491
AclI	AA'CG,TT	2134	RsrII	CG'GWC,CG	4889
PshAI	GACNN NNGTC	2226	BstBI	TT'CG,AA	5055
Esp3I	CGTCTCN'NNNN,	2234	BsaI	GGTCTCN'NNNN,	5362
BsmBI	CGTCTCN'NNNN,	2234	PciI	A'CATG,T	6291

➤ pCMV-mCherry-p62质粒中推荐的测序引物序列如下:

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

T7 primer (2845-2866): 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3'

➤ pCMV-mCherry-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
D2818-1μg	pCMV-mCherry-p62	1μg
D2818-100μg	pCMV-mCherry-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 2019.07.21