

## pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)

产品编号	产品名称	包装
D2841-1μg	pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	1μg
D2841-100μg	pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	100μg

### 产品简介:

- pCMV-CD63-mCherry是碧云天自行研发的一种可以在哺乳动物细胞中通过CMV启动子表达人源CD63-mCherry融合蛋白的质粒。本产品可用于外泌体的示踪研究，用于研究外泌体的形成、分泌、靶向和运输机制。该质粒带有卡那霉素(Kanamycin)抗性。
- 外泌体(Exosome)是膜包裹的细胞外囊泡(Extracellular vesicles, EVs)，直径约为40-160nm，具有脂质双分子层结构，天然存在于血液、尿液、脑脊液，以及体外培养细胞的上清液中[1]，几乎所有类型的细胞都可以产生并释放外泌体[2]。如图1所示，细胞膜内吞(Endocytosis)依次形成初级内体(Early sorting endosome, ESE)、次级内体(Late sorting endosome, LSE)和多囊泡体(Multivesicular body, MVB)，其中多囊泡体包含腔内囊泡(Intraluminal vesicles, ILVs)。多囊泡体与细胞膜融合形成外泌体，外泌体携带多种来自其母体细胞的成分(包括核酸、蛋白质、脂类和代谢物等)释放到胞外基质中[3]。外泌体可以被附近或远距离的细胞识别和融合，是细胞间进行相互调控的重要媒介，参与了癌症、神经退行性病变和炎症性疾病等多种疾病的发病过程，影响细胞多方面的功能[4-5]。

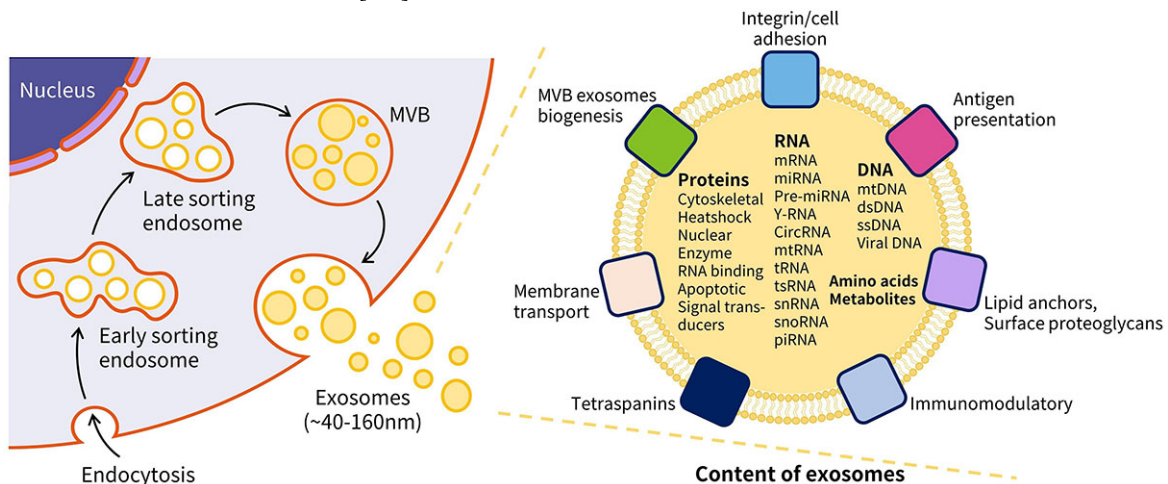


图 1. 外泌体的形成原理及其携带的母体细胞的成分示意图。

- 外泌体标记标志蛋白(Protein biomarkers for exosome)，也称外泌体蛋白标志物(Protein markers for exosome)，可以用于鉴定、观察、标记和纯化外泌体。据外泌体数据库(ExoCarta, <http://www.exocarta.org>)统计来自不同生物、细胞类型和体液的外泌体中已发现9769种蛋白质，ExoCarta列出了100种常见外泌体标记蛋白标志物([http://exocarta.org/exosome\\_markers\\_new](http://exocarta.org/exosome_markers_new))，其中CD9、CD63、CD81、Alix、Flotillin、Ceramide和Tumor susceptibility gene 101 (TSG101)是最常用的外泌体标志蛋白标志物(如图2所示[3])。CD63在人体中由CD63基因编码的蛋白质抗原，是跨膜四超家族(Transmembrane 4 superfamily)成员之一，为4次跨膜蛋白[1]，大量存在于细胞外囊泡的表面，也会出现在普通的细胞膜表面。CD63是最常用的外泌体标志蛋白标志物之一，被认为是调控细胞外囊泡产生和胞内物质分选的关键因子[6]。

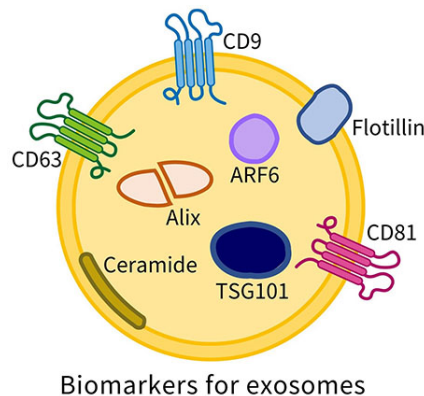


图 2. 常见的外泌体标志蛋白标志物示意图。

➤ pCMV-CD63-mCherry质粒转染HEK293T细胞的效果如图3所示。

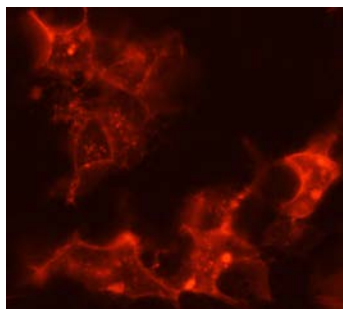
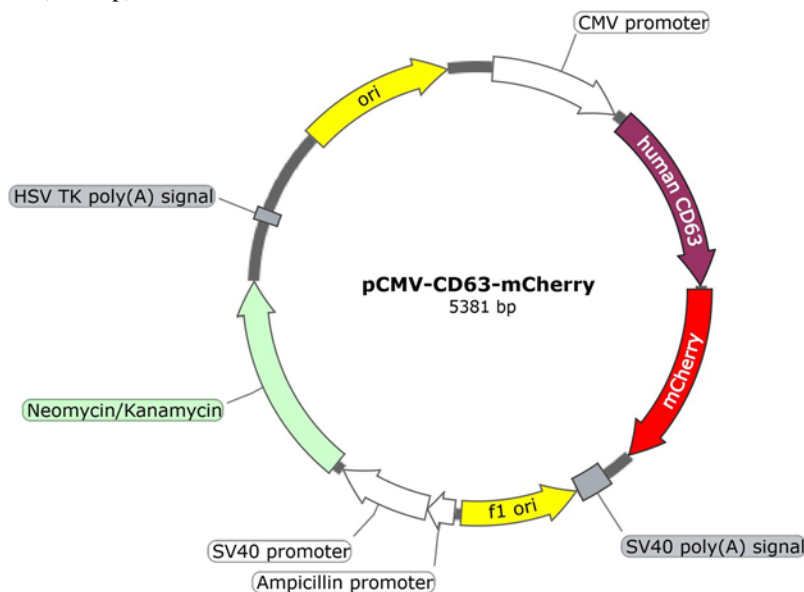


图3. 碧云天生产的pCMV-CD63-mCherry (D2841)质粒转染HEK293T细胞效果图。pCMV-CD63-mCherry质粒转染HEK293T细胞24小时后，经荧光显微镜观察。实际荧光强度会因实验仪器、检测条件的不同而存在差异，本图仅供参考。

➤ pCMV-CD63-mCherry质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
CMV promoter		61-568
human CD63		612-1325
mCherry		1341-2051
SV40 poly(A) signal		2169-2290
f1 ori		2297-2752
Ampicillin promoter		2779-2883
SV40 promoter		2885-3242
Neomycin/Kanamycin resistance gene		3277-4071
HSV TK poly(A) signal		4303-4350
ori		4679-5267

➤ pCMV-CD63-mCherry质粒(5381bp)的图谱如下：



➤ pCMV-CD63-mCherry质粒的详细图谱如下：

```

CMV promoter
551 GTCTATATAA GCAGAGCTGG TTTAGTGAAC CGTCAGATCC GCTAGCGCTA
    CAGATATATT CGTCTCGACC AAATCACTTG GCAGTCTAGG CGATCGCGAT
        human CD63
601 CCGGTGCCAC CATGGCGGTG GAAGGAGGAA TGAAATGTGT GAAGTTCTTG
    GGCCACGGTG GTACCGCCAC C'TTCCTCCTT ACTTTACACA C'TTCAAGAAC
651 CTCTACGTCC TCCTGCTGGC C'TTTGCGCC TGTGCAGTGG GACTGATTGC
    GAGATGCAGG AGGACGACCG GAAAACGCGG ACACGTCACC CTGACTAACG
701 CGTGGGTGTC GGGGCACAGC TTGTCCTGAG TCAGACCATA -----
    GCACCCACAG CCCCCTGTGC AACAGGACTC AGTCTGGTAT -----
    
```

1201 GCTGGCTGAG GAAAAATGTG CTGGTGGTAG CTGCAGCAGC CCTTGGAATT  
CGACCGACTC CTTTTTACAC GACCACCATC GACGTCGTCG GGAACCTTAA

1251 GCTTTTGTGCG AGGTTTTGGG AATTGTCTTT GCCTGCTGCC TCGTGAAGAG  
CGAAAACAGC TCCAAAACCC TTAACAGAAA CGGACGACGG AGCACTTCTC  
mCherry

1301 TATCAGAAGT GGCTACGAGG TGATGGGAGG AGGGGGATCC ATGGTGAGCA  
ATAGTCTTCA CCGATGCTCC ACTACCCTCC TCCCCCTAGG TACCACTCGT

1351 AGGGCGAGGA GGATAACATG GCCATCATCA AGGAGTTCAT GCGCTTCAAG  
TCCCCTCCT CCTATTGTAC CGGTAGTAGT TCCTCAAGTA CGCGAAGTTC

1401 GTGCACATGG AGGGCTCCGT GAACGCCAC GAGTTCGAGA -----  
CACGTGTACC TCCCGAGGCA CTTGCCGGTG CTCAAGCTCT -----

2001 CGCGCCGAGG GCCGCCACTC CACCGCGGC ATGGACGAGC TGTACAAGTA  
GCGCGCTCC CGGCGGTGAG GTGGCCGCC TACCTGCTCG ACATGTTTCA

2051 GTCTAGATAA CTGATCATAA TCAGCCATAC CACATTTGTA GAGGTTTTAC  
CAGATCTATT GACTAGTATT AGTCGGTATG GTGTAAACAT CTCCAAAATG

➤ pCMV-CD63-mCherry中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AccI	AccIII	Acc65I	Acc113I	AclI
AcvI	AhlI	AjiI	AjuI	Aor13HI	ApaI	AscI
AsiSI	Asp700I	Asp718I	BaeI	BarI	BbrPI	BcgI
BcuI	BglII	BlpI	BmcAI	BmgBI	BoxI	Bpu1102I
BpvUI	BseAI	BsePI	BsiWI	BsmBI	Bsp13I	Bsp68I
Bsp120I	Bsp1720I	BspEI	BssHII	BssNAI	Bst1107I	BstENI
BstPAI	BstZ17I	BtrI	BtuMI	CciNI	CelII	Cfr9I
Cfr42I	Ecl136II	Eco32I	Eco53kI	Eco72I	EcoICRI	EcoNI
EcoRI	EcoRV	Esp3I	FblI	FseI	FspAI	HindIII
I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI	KpnI	Kpn2I	KspI
MauBI	MluI	MreI	MroI	MroXI	MssI	NotI
NruI	PacI	Paer7I	PalAI	PauI	PdmI	Pfl123II
PI-PspI	PI-SceI	Ple19I	PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI
PshAI	Psp5II	Psp124BI	Psp1406I	PspCI	PspLI	PspOMI
PspPPI	PspXI	PsrI	PteI	PvuI	RgaI	RigI
RruI	SacI	SacII	SalI	SanDI	ScaI	SfaAI
Sfr274I	Sfr303I	SgfI	SgrBI	SgrDI	SgsI	SlaI
SmaI	SmiI	SpeI	SrfI	SstI	SstII	SwaI
TspMI	XagI	XhoI	XmaI	XmaCI	XmiI	XmnI
ZrmI						

➤ pCMV-CD63-mCherry中的单酶切位点包括:

AfeI	AflII	AflIII	AgeI	AhdI	AleI	BamHI
BmtI	BsaI	BspDI	BsrGI	BstBI	BstXI	ClaI
DraIII	EagI	FspI	HpaI	MfeI	NdeI	NheI
PciI	PflFI	PflMI	RsrII	SbfI	SexAI	SfiI
SgrAI	SnaBI	Tth111I	XbaI			

➤ pCMV-CD63-mCherry质粒推荐的测序引物序列如下:

CMV-F primer (519-539): 5'-CGCAAATGGGCGGTAGGCGTG-3'

mCherry-C-5 primer (1929-1949): 5'-GCCTACAACGTCAACATCAAG-3'

➤ pCMV-CD63-mCherry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
D2841-1μg	pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	1μg
D2841-100μg	pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	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0.25μg/μl, 共400μl。可以直接用于转染细胞。

## 参考文献:

1. Metzelaar MJ, Wijngaard PL, Peters PJ, Sixma JJ, Nieuwenhuis HK, Clevers HC. J Biol Chem. 1991. 15; 266(5): 3239-45.
2. Luo W, Dai Y, Chen Z, Yue X, Andrade-Powell KC, Chang J. Commun Biol. 2020. 10; 3 (1): 114.
3. Kalluri R, LeBleu VS. Science. 2020. 367 (6478).
4. He C, Zheng S, Luo Y, Wang B. Theranostics. 2018. 1; 8 (1): 237-255.
5. Zhang Y, Bi J, Huang J, Tang Y, Du S, Li P. Int J Nanomedicine. 2020. 22; 15: 6917-6934.
6. Mathieu M, Névo N, Jouve M, Valenzuela JI, Maurin M, et al. Nat Commun. 2021. 12(1):4389.

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C4007-100μl	Lenti-CMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	100μl
C4007-500μl	Lenti-CMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	500μl
C4009-100μl	Lenti-CMV-CD9-mCherry (外泌体示踪用)	100μl
C4009-500μl	Lenti-CMV-CD9-mCherry (外泌体示踪用)	500μl
C4011-100μl	Lenti-CMV-CD63-EGFP (外泌体示踪用)	100μl
C4011-500μl	Lenti-CMV-CD63-EGFP (外泌体示踪用)	500μl
C4013-100μl	Lenti-CMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	100μl
C4013-500μl	Lenti-CMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	500μl
C4015-100μl	Lenti-CMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	100μl
C4015-500μl	Lenti-CMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	500μl
C4017-100μl	Lenti-CMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	100μl
C4017-500μl	Lenti-CMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	500μl
D2831-1μg	pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	1μg
D2831-100μg	pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	100μg
D2833-1μg	pCMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	1μg
D2833-100μg	pCMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	100μg
D2835-1μg	pCMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	1μg
D2835-100μg	pCMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	100μg
D2837-1μg	pCMV-CD9-mCherry (外泌体示踪用)	1μg
D2837-100μg	pCMV-CD9-mCherry (外泌体示踪用)	100μg
D2839-1μg	pCMV-CD63-EGFP (外泌体示踪用)	1μg
D2839-100μg	pCMV-CD63-EGFP (外泌体示踪用)	100μg
D2841-1μg	pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	1μg
D2841-100μg	pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	100μg

Version 2022.07.21