

pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg

产品编号	产品名称	包装
D2797-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg	1μg
D2797-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg	100μg

产品简介:

- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg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和潮霉素B (Hygromycin B)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。

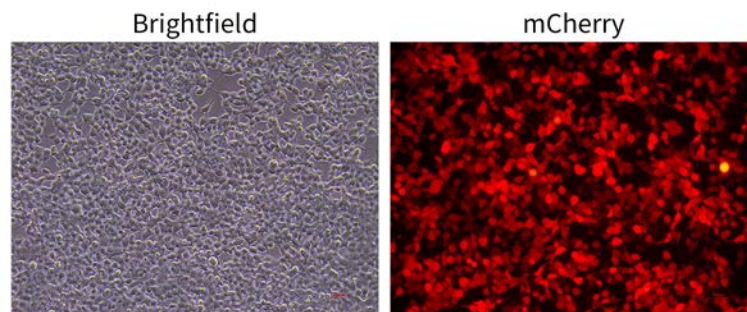
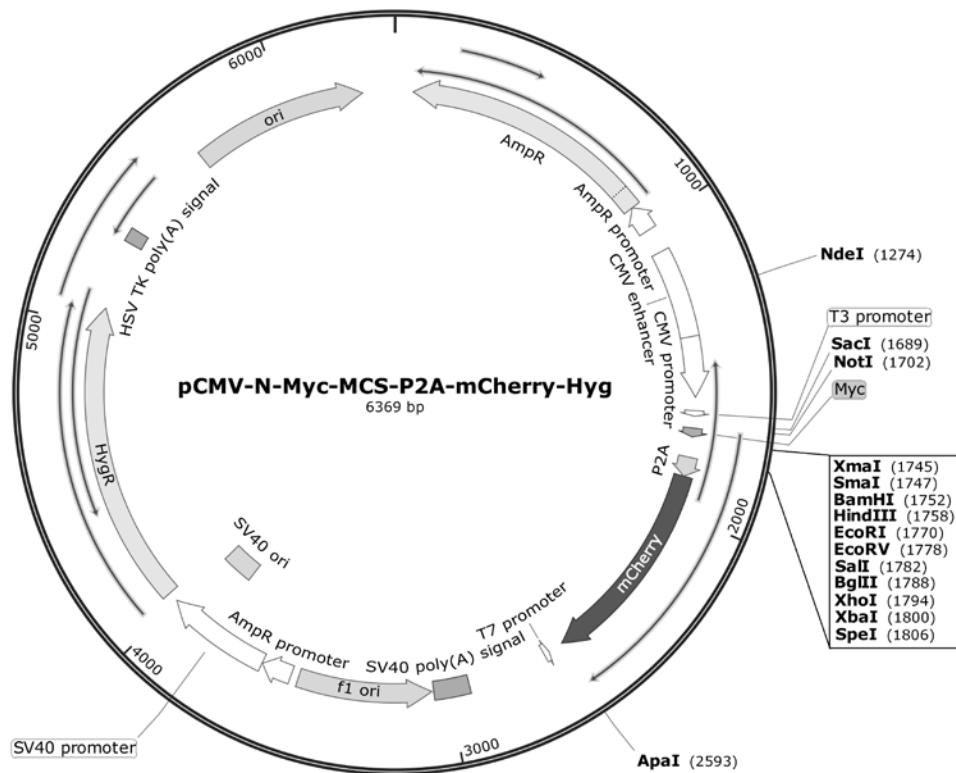


图1. 碧云天pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片, 右侧为荧光照片。本图仅供参考, 实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 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)和潮霉素B (Hygromycin B)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Hygromycin B (ST1389)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg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
HygR	4040-5065

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg质粒(6369bp)的图谱如下:



➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg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 XmaI 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 CTTCTGTCCT

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 AGGGTGCCCC
 GGGATGCTCC CGTGGGTCTG GCGGTTTCGAC 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
CCTGCCCGCG GACTTCCCGC TCTAGTTCGT CTCCGACTTC GACTTCTGCT

2401 GCGGCCACTA CGACGCTGAG GTCAAGACCA CCTACAAGGC CAAGAAGCCC
CGCCGGTGAT GCTGCGACTC CAGTTCCTGGT GGATGTTCCG GTTCTTCGGG

2451 GTGCAGCTGC CCGGCGCCTA CAACGTCAAC ATCAAGTTGG ACATCACCTC
CACGTGCGAG GGCCGCGGAT GTTGCAGTTG TAGTTCAACC TGTAGTGGAG

2501 CCACAACGAG GACTACACCA TCGTGGAACA GTACGAACGC GCCGAGGGCC
GGTGTGCTC CTGATGTGGT AGCACCTTGT CATGCTTGCG CGGCTCCCGG

ApaI

2551 GCCACTCCAC CGGCGGCATG GACGAGCTGT ACAAGTAGGG GCCCGGTACC
CGGTGAGGTG GCCGCCGTAC CTGCTCGACA TGTTTCATCC CGGGCCATGG

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

AarI	AbsI	AcvI	AfeI	AflII	AgeI	Aor51HI
AscI	AsiGI	BaeI	BbrPI	BfrI	BlpI	Bpu1102I
BsePI	BshTI	BsiWI	Bsp68I	Bsp1720I	BspQI	BspTI
BssHII	BssNAI	Bst98I	Bst1107I	BstAFI	BstENI	BstZ17I
BtuMI	CelII	CspAI	Eco47III	Eco72I	EcoNI	FseI
FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	LguI	MauBI	MreI
MspCI	MssI	NruI	PalAI	PauI	PciSI	Pf123II
PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI
Psp5II	PspCI	PspLI	PspPPI	PspXI	PsrI	RigI
SanDI	SapI	SgrDI	SgsI	SmiI	SwaI	Vha464I
XagI						

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

AccI	GT`MK, AC	1783	MscI	TGG CCA	1908
ApaI	G, GGCC`C	2593	NdeI	CA`TA, TG	1274
AsiSI	GCG, AT`CGC	4404	NheI	G`CTAG, C	1631
BamHI	G`GATC, C	1752	NotI	GC`GGCC, GC	1702
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	2313	Paer7I	C`TCGA, G)	1794
BbvCI	CC`TCA, GC	2416	PciI	A`CATG, T	6317
BcgI	NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ , NN`	641	Pf1FI	GACN`N, NGTC	4544
BclI	T`GATC, A	2825	Pf1MI	CCAN, NNN`NTGG	2317
BglII	A`GATC, T	1788	PshAI	GACNN NNGTC	4067
BmgBI	CAC GTC	1856	PspOMI	G`GGCC, C	2589

BmtI	G,CTAG`C	1635	RsrII	CG`GWC,CG	4448
Bpu10I	CC`TNA,GC	2416	SacI	G,AGCT`C	1689
BsgI	GTGCAGNNNNNNNNNNNNNN,NN`	2472	SacII	CC,GC`GG	1696
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	1846	SalI	G`TCGA,C	1782
BspDI	AT`CG,AT	4008	SbfI	CC,TGCA`GG	2233
BsrGI	T`GTAC,A	2578	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3943
BstBI	TT`CG,AA	5081	SgrAI	CR`CCGG,YG	2559
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1697	SmaI	CCC GGG	1747
ClaI	AT`CG,AT	4008	SnaBI	TAC GTA	1380
CspCI	NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN`	1416	SpeI	A`CTAG,T	1806
Eco53kI	GAG CTC	1687	SrfI	GCCC GGGC	1747
EcoRI	G`AATT,C	1770	TspMI	C`CCGG,G	1745
EcoRV	GAT ATC	1778	Tth111I	GACN`N,NGTC	4544
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	1846	XbaI	T`CTAG,A	1800
HindIII	A`AGCT,T	1758	XcmI	CCANNNN,N`NNNNTG G	2564
HpaI	GTT AAC	2931	XhoI	C`TCGA,G	1794
MfeI	C`AATT,G	2918	XmaI	C`CCGG,G	1745
MluI	A`CGCG,T	3054	XmnI	GAANN NNTTC	735

- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg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-Hyg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
D2797-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg	1μg
D2797-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg	100μg
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃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：

- 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。
- 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。
- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg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
ST1389-50mg	Hygromycin B (潮霉素B)	50mg
ST1389-250mg	Hygromycin B (潮霉素B)	250mg
ST1389-1g	Hygromycin B (潮霉素B)	1g
ST1389-5g	Hygromycin B (潮霉素B)	5g

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
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
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 2022.03.18