

pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)

产品编号	产品名称	包装
D2861-1μg	pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)	1μg
D2861-100μg	pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)	100μg

产品简介:

- pCMV-jGCaMP7系列质粒(jGCaMP7b/jGCaMP7c/jGCaMP7f/jGCaMP7s)是用于钙离子(Ca^{2+})荧光检测的哺乳动物细胞表达质粒,表达的是经过突变和优化并适用于细胞或组织中钙离子荧光检测的M13-GFP-CaM融合蛋白。M13-GFP-CaM融合蛋白这个钙离子探针(calcium probe)中,环状排列的绿色荧光蛋白(circularly permuted green fluorescent protein, cpGFP)一端和钙调蛋白(calmodulin, CaM)融合表达,另一端与可以和钙调蛋白CaM相互作用的肌球蛋白轻链激酶M13(也称RS20)肽链融合表达。这样当钙离子结合钙调蛋白时,可以改变钙调蛋白的构象,同时也会影响和钙调蛋白相互作用的M13的构象,钙调蛋白和M13的构象改变最终导致GFP的构象改变,从而影响其荧光的强弱,最终实现对于钙离子浓度变化的检测。



图1. GCaMP7系列蛋白结构图。其中pRSET A Tag中含有6X His tag。

- 碧云天构建的pCMV-jGCaMP7系列质粒(jGCaMP7b/jGCaMP7c/jGCaMP7f/jGCaMP7s)是最新一代基因编码的钙离子探针系列,适用于常见细胞的细胞内钙离子水平变化检测,并且特别适用于监测特定条件下神经元中的钙离子水平的变化。
- jGCaMP7系列的四个融合蛋白与GCaMP6系列相比,各有其突出特点:高亮度钙离子荧光探针jGCaMP7b (brighter baseline fluorescence)有更亮的本底荧光,并且灵敏度可达到GCaMP6s的3倍,未结合钙离子时的荧光强度比GCaMP6s增强50%;高对比度钙离子荧光探针jGCaMP7c (high contrast with low baseline fluorescence)有高对比度低和更低的背景荧光,并且灵敏度是GCaMP6s的2.7倍,对比度显著增强;快速响应型钙离子荧光探针jGCaMP7f (fast kinetics)具有快速动力学特点,反应速率是GCaMP6f的5倍和GCaMP6s的3倍,更加适合检测钙离子的动态变化;高灵敏度钙离子荧光探针jGCaMP7s (sensitive and slow)具有高灵敏度但响应速度相对较慢的特点,灵敏度可达GCaMP6s的5倍以上,并且响应速率也比GCaMP6s快。
- pCMV-jGCaMP7系列质粒是在针对其M13-GFP-CaM融合蛋白中肽链相互作用的界面区域进行突变筛选并优化而得到的。四个融合蛋白对应的突变氨基酸序列参考表1。

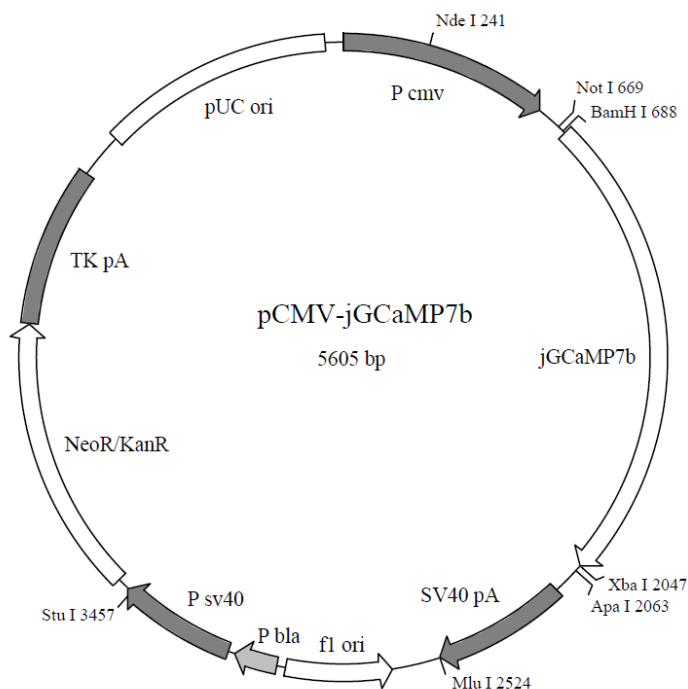
表1: jGCaMP7突变位点

	M13	Linker1	cpGFP	Linker2	CaM				
jGCaMP7s	A52V				A317L				
jGCaMP7f			H78K		A317L		R381T	T383S	G392R
jGCaMP7b			H78K	L302P	A317L	M374Y			
jGCaMP7c		L59Q	E60P	H78K		M378G	K379S	T383S	T412N

- jGCaMP7b中的突变主要发生在cpGFP(H78K)、Linker2(L302P)和CaM(A317L/M374Y)上。pCMV-jGCaMP7b质粒含有CMV启动子,可以高效启动目的蛋白在细胞中的表达,该质粒为卡那霉素抗性。
- pCMV-jGCaMP7b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
jGCaMP7b		693-2045
T7 promoter and T7 primer binding site		2107-2128
SV40 polyA signal		2140-2523
f1 origin of ss-DNA replication		2661-2965
bla promoter		2990-3114
SV40 promoter		3134-3427
Neomycin/kanamycin resistance ORF		3507-4298
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal		4299-4757
pUC origin		4886-5553

- pCMV-jGCaMP7b质粒(5605bp)的图谱如下:



➤ pCMV-jGCaMP7b的多克隆位点的详细图谱如下:

	SacII	NotI	BamHI	jGCaMP7b	
651	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCTCTAGC	CCGGGCGGAT	CCATGGGTTC
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGAGATCG	GGCCCGCTA	GGTACCCAAG
701	TCATCATCAT	CATCATCATG	GTATGGCTAG	CATGACTGGT	GGACAGCAAA
	CAAGTTCCAC	GCGTACCTCC	CGAGGCACTT	GCCGGTGATG	AAGCTCTAGC
751	TGGGTCTGGGA	TCTGTACGAC	GATGACGATA	AGGATCTCGC	CACCATGGTC
	ACCCAGCCCT	AGACATGCTG	CTACTGCTAT	TCCTAGAGCG	GTGGTACCAG
801	GACTCATCAC	GTCGTAAGTG	GAATAAGACA	GGTCACGCAG	TCAGAGCTAT
	CTGAGTAGTG	CAGCATTCAC	CTTATTCTGT	CCAGTGCGTC	AGTCTCGATA
851	AGGTCGGCTG	AGCTCACTCG	AGAACGTCTA	TATCAAGGCC	GACAAGCAGA
	TCCAGCCGAC	TCGAGTGAGC	TCTTGCAGAT	ATAGTTCCGG	CTGTTCGTCT
901	AGAACGGCAT	CAAGGCGAAC	TTCAAGATCC	GCCACAACAT	CGAGGACGGC
	TCTTGCCGTA	GTTCCGCTTG	AAGTTCTAGG	CGGTGTTGTA	GTCCTTGCCG
951	GGCGTGCAGC	TCGCTACCA	CTACCAGCAG	AACACCCCCA	TCGCGCACGG
	CCGCACGTGC	AGCGGATGGT	GATGGTCGTC	TTGTGGGGGT	AGCCGCTGCC
1001	CCCCGTGCTG	CTGCCGACA	ACCACTACCT	GAGCGTGCAG	TCCAAACTTT
	GGGGCAGCAC	GACGGGCTGT	TGGTGATGGA	CTCGCACGTC	AGGTTTGAAA
1051	CGAAAGACCC	CAACGAGAAG	CGCGATCACA	TGGTCTTGCT	GGAGTTCGTG
	GCTTTCTGGG	GTTGCTCTTC	GCGCTAGTGT	ACCAGGACGA	CCTCAAGCAC
1101	ACCGCCGCCG	GGATCACTCT	CGGCATGGAC	GAGCTGTACA	AGGGCGGTAC
	TGGCGGCGGC	CCTAGTGAGA	GCCGTACCTG	CTCGACATGT	TCCCGCCATG
1151	CGGAGGGAGC	ATGGTGAGCA	AGGGCGAGGA	GCTGTTCAAC	GGGGTGGTGC
	GCCTCCCTCG	TACCACTCGT	TCCCGCTCCT	CGACAAGTGG	CCCCACCACG
1201	CCATCCTGGT	CGAGCTGGAC	GGCGACGTAA	ACGGCCACAA	GTTCAGCGTG
	GGTAGGACCA	GCTCGACCTG	CCGCTGCATT	TGCCGGTGTT	CAAGTCGCAC
1251	TCCGGCGAGG	GTGAGGGCGA	TGCCACCTAC	GGCAAGCTGA	CCCTGAAGTT
	AGGCCGCTCC	CACTCCCCTC	ACGGTGGATG	CCGTTCGACT	GGGACTTCAA
1301	CATCTGCACC	ACCGGCAAGC	TGCCCGTGCC	CTGGCCACCC	CTCGTGACCA
	GTAGACGTGG	TGGCCGTTTC	ACGGGCACGG	GACCGGGTGG	GAGCACTGGT

1351 CCCTGACCTA CGGCGTGCAG TGCTTCAGCC GCTACCCCGA CCACATGAAG
ACGTCCTTAA GCTATAGCAG CTGTCTAGAG AGCTCAGATC TTGATCACCC

1401 CAGCACGACT TCTTCAAGTC CGCCATGCCC GAAGGCTACA TCCAGGAGCG
GTCGTGCTGA AGAAGTTCAG GCGGTACGGG CTTCCGATGT AGGTCCTCGC

1451 CACCATCTTC TTCAAGGACG ACGGCAACTA CAAGACCCGC GCCGAGGTGA
GTGGTAGAAG AAGTTCCTGC TGCCGTTGAT GTTCTGGGCG CGGCTCCACT

1501 AGTTCGAGGG CGACACCCTG GTGAACCGCA TCGAGCTTAA GGCATCGAC
TCAAGCTCCC GCTGTGGGAC CACTTGGCGT AGCTCGAATT CCCGTAGCTG

1551 TTCAAGGAGG ACGGCAACAT CCTGGGGCAC AAGCTGGAGT ACAACCCACC
AAGTTCCTCC TGCCGTTGTA GGACCCCGTG TTCGACCTCA TGTTGGGTGG

1601 TGACCAACTG ACTGAAGAGC AGATCGCAGA ATTTAAAGAG CTTTTCTCCC
ACTGGTTGAC TGACTTCTCG TCTAGCGTCT TAAATTTCTC GAAAAGAGGG

1651 TATTTGACAA GGACGGGGAT GGGACAATAA CAACCAAGGA GCTGGGGACG
ATAAATGTT CCTGCCCTA CCCTGTTATT GTTGGTTCCT CGACCCCTGC

1701 GTGATGCGGT CTCTGGGGCA GAACCCACA GAAGCAGAGC TGCAGGACAT
CACTACGCCA GAGACCCCGT CTTGGGGTGT CTTGCTCTCG ACGTCCTGTA

1751 GATCAATGAA GTAGATGCCG ACGGTGACGG CACAATCGAC TTCCCTGAGT
CTAGTTACTT CATCTACGGC TGCCACTGCC GTGTTAGCTG AAGGGACTCA

1801 TCCTGACAAT GTACGCAAGA AAAATGAAAT ACAGGGACAC GGAAGAAGAA
AGGACTGTTA CATGCGTCTT TTTTACTTTA TGTCCCTGTG CTTTCTTCTT

1851 ATTAGAGAAG CGTTCGGTGT GTTTGATAAG GATGGCAATG GCTACATCAG
TAATCTCTTC GCAAGCCACA CAAACTATTC CTACCGTTAC CGATGTAGTC

1901 TGCAGCAGAG CTTGCCACG TGATGACAAA CCTTGAGAG AAGTTAACAG
ACGTCGTCTC GAAGCGGTGC ACTACTGTTT GGAACCTCTC TTCAATTGTC

1951 ATGAAGAGGT TGATGAAATG ATCAGGGAAG CAGACATCGA TGGGGATGGT
TACTTCTCCA ACTACTTTAC TAGTCCCTTC GTCTGTAGCT ACCCCTACCA

XbaI

2001 CAGGTAAACT ACGAAGAGTT TGTACAAATG ATGACAGCGA AGTGATCTAG
GTCCATTTGA TGCTTCTCAA ACATGTTTAC TACTGTCGCT TCACTAGATC

SpeI A p a I

2051 AACTAGTGGG CCCGGTACCT TAATTAATTA AGGTACCAGG TAAGTGTACC
TTGATCACCC GGGCCATGGA ATTAATTAAT TCCATGGTCC ATTCACATGG

➤ pCMV-jGCaMP7b中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pCMV-jGCaMP7b)包括:

AclI	AfeI	AgeI	AhdI	AscI	AsiSI	BaeI
BbsI	BbvCI	BglII	BsiWI	BsmBI	BspEI	BssHII
BstEII	BstZ17I	EcoNI	EcoRI	EcoRV	Esp3I	FseI
HindIII	NruI	PflMI	PmeI	PpuMI	PshAI	PspXI
SbfI	ScaI	SgrAI	SwaI	XcmI	XmnI	

➤ pCMV-jGCaMP7b中的单酶切位点 (Restriction enzymes that cut pCMV-jGCaMP7b once) 包括:

AccI	GT`MK, AC	799	PflFI	GACN`N, NGTC	3735
AflII	C`TTAA, G	1536	PluTI	G, GCGC`C	3638
ApaI	G, GGCC`C	2062	PmlI	CAC GTG	1919
ApaLI	G`TGCA, C	5239	PspOMI	G`GGCC, C	2058
BamHI	G`GATC, C	687	PstI	C, TGCA`G	1744
BcgI	NN` (N) 10CGA (N) 6TGC (N) 10, NN	735	PvuI	CG, AT`CG	2140
BlpI	GC`TNAGC	858	RsrII	CG`GWC, CG	4151
BmgBI	CAC GTC	810	SacII	CC, GC`GG	662
Bpu10I	CC`TNA, GC	1029	SalI	G`TCGA, C	798
BsaXI	, NNN` (N) 9AC (N) 5CTCC (N) 7, NNN`	2687	SapI	GCTCTTCN`NNN,	1609
BspQI	GCTCTTCN`NNN,	1609	SfiI	GGCCN, NNN`NGGCC	3410
CspCI	, NN` (N) 11CAA (N) 5GTGG (N) 10, NN`	382	SfoI	GGC GCC	3636

DraIII	CAC, NNN`GTG	2753	SmaI	CCC GGG	682
KasI	G`GCGC, C	3634	SnaBI	TAC GTA	342
MfeI	C`AATT, G	2837	SpeI	A`CTAG, T	2052
MluI	A`CGCG, T	2523	SrfI	GCCC GGGC	682
MscI	TGG CCA	3717	StuI	AGG CCT	3456
NarI	GG`CG, CC	3635	TspMI	C`CCGG, G	680
NdeI	CA`TA, TG	240	Tth111I	GACN`N, NGTC	3753
NotI	GC`GGCC, GC	668	XbaI	T`CTAG, A	2046
PaeR7I	CTCGAG	867	XhoI	C`TCGA, G	867
PciI	A`CATG, T	5553	XmaI	C`CCGG, G	680

- pCMV-jGCaMP7b的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。
- pCMV-jGCaMP7b质粒转染Hela细胞12h后，于培养基中加入Ionomycin (2μM)后150秒内的荧光变化效果请参考图2本产品网站上的视频。

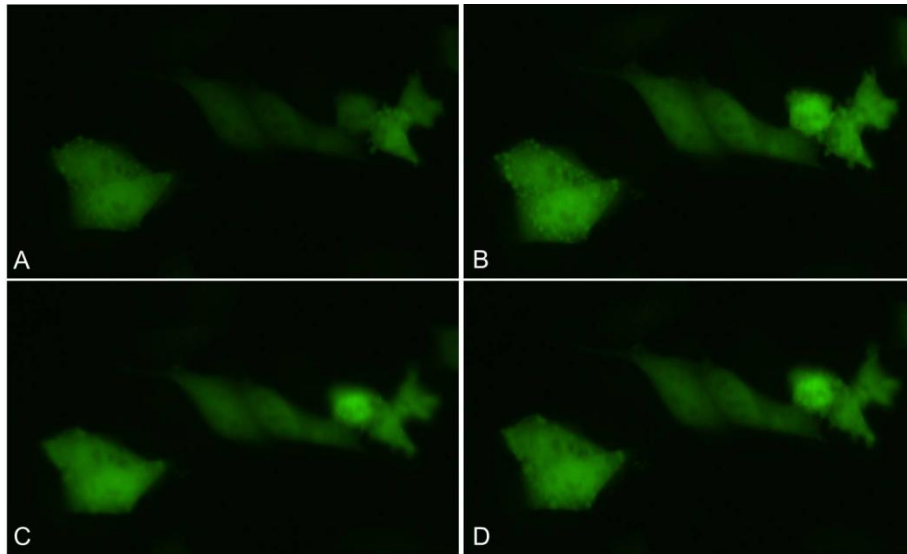


图2. pCMV-jGCaMP7b质粒转染Hela细胞12h后2μM Ionomycin处理前后的荧光变化效果图。pCMV-jGCaMP7b质粒转染培养在六孔板中的Hela细胞12h后，先用PBS洗涤细胞2-3次，加入1ml DMEM，选择适当视野，在荧光显微镜下拍摄视频。开始拍摄5-10秒后，加入1ml含有4μM Ionomycin的新鲜DMEM培养液(最终浓度为2μM Ionomycin)，继续拍摄视频约2-3分钟。图中可见加入Ionomycin之前很细胞的荧光比较弱，加入Ionomycin后细胞的荧光逐渐变强，时间较长后荧光又会逐渐变弱。A. 未加Ionomycin；B. 加入Ionomycin 30s；C：加入Ionomycin 60s；D：加入Ionomycin 120s。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D2861-1μg	pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)	1μg
D2861-100μg	pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)	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：

- 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。

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
D2861-1μg	pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)	1μg
D2861-100μg	pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)	100μg
D2863-1μg	pCMV-jGCaMP7c (高对比度钙离子荧光探针)	1μg
D2863-100μg	pCMV-jGCaMP7c (高对比度钙离子荧光探针)	100μg
D2865-1μg	pCMV-jGCaMP7f (快速响应型钙离子荧光探针)	1μg
D2865-100μg	pCMV-jGCaMP7f (快速响应型钙离子荧光探针)	100μg
D2867-1μg	pCMV-jGCaMP7s (高灵敏度钙离子荧光探针)	1μg
D2867-100μg	pCMV-jGCaMP7s (高灵敏度钙离子荧光探针)	100μg