

pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc

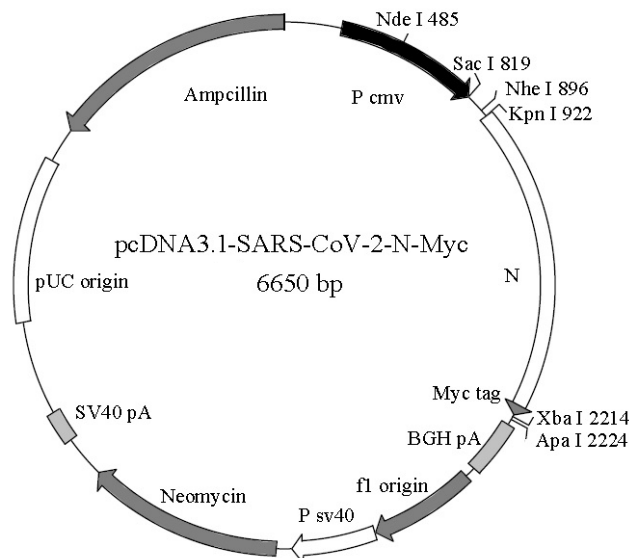
| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------------|---------------------------|-------------|
| D2943-1 μ g | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc | 1 μ g |
| D2943-100 μ g | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc | 100 μ g |

产品简介:

- pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc是碧云天自行研发的哺乳动物细胞表达质粒,用于表达C端带有Myc标签(EQKLISEEDL)的新冠状病毒(SARS-CoV-2)核衣壳(Nucleocapsid, N)蛋白,可以使用抗Myc标签的抗体来识别N蛋白的表达,或进行免疫共沉淀分析等。该质粒含有CMV启动子,可以高效启动目的蛋白在细胞中的表达,质粒为氨苄青霉素抗性。
- N蛋白是冠状病毒的四个结构蛋白之一,由N基因编码,为核衣壳磷酸蛋白(nucleocapsid phosphoprotein),是冠状病毒的主要结构蛋白,也是冠状病毒编码蛋白中表达丰度最高的蛋白。N蛋白在病毒的组装、释放以及病毒的致病性方面发挥重要作用。冠状病毒N蛋白功能相对保守,包含两个结构独立的RNA结合结构域:N端RNA结合结构域(N-terminal RNA binding domain, NTD)和C端结构域(C-terminal domain, CTD),中间还有一个丝氨酸和精氨酸富集的连接区(serine and arginine linker region, SR linker)。冠状病毒的N蛋白能与病毒RNA紧密结合,通过螺旋堆积将RNA包装,从而保护病毒的基因组RNA。在病毒感染过程中,N蛋白是所有结构蛋白中诱导免疫反应最强烈的蛋白,由于其分子量小,没有糖基化修饰,易于蛋白表达纯化,因此常作为冠状病毒血清学检查最为合适的抗原。
- pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc质粒的主要信息如下:

| Feature | Nucleotide | Position |
|--|------------|-----------|
| CMV promoter | | 232-819 |
| T7 promoter and T7 primer binding site | | 863-882 |
| Multiple cloning site | | 895-922 |
| N protein | | 923-2179 |
| Myc-tag | | 2180-2209 |
| BGH pA | | 2250-2474 |
| fl origin of ss-DNA replication | | 2520-2948 |
| SV40 promoter | | 2953-3296 |
| Neomycin resistance ORF | | 3358-4152 |
| SV40 polyA signal | | 4326-4456 |
| pUC origin | | 4839-5509 |
| Ampicillin resistance ORF | | 5654-6650 |
| bla promoter | | 6549-6555 |

- pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc质粒(6650bp)的图谱如下:



➤ pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc的多克隆位点的详细图谱如下:

| | NheI | HindIII | KpnI | N | Protein |
|------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 895 | GCTAGCGTTT CGATCGCAAA | AAACTTAAGC TTTGAATTTCG | TTGGTACCAT AACCATGGTA | GTCTGATAAT CAGACTATTA | GGACCCCAAA CCTGGGGTTT |
| 945 | ATCAGCGAAA TAGTCGCTTT | TGCACCCCGC ACGTGGGGCG | ATTACGTTTG TAATGCAAAC | GTGGACCCTC CACCTGGGAG | AGATTCAACT TCTAAGTTGA |
| 995 | GGCAGTAACC CCGTCATTGG | AGAATGGAGA TCTTACCTCT | ACGCAGTGGG TGCCTCACCC | GCGCGATCAA CGCGCTAGTT | AACAACGTCG TTGTTGCAGC |
| 1045 | GGCCCAAGGT CGGGGTTCCA | TTACCCAATA AATGGGTAT | ATACTGCGTC TATGACGCAG | TTGGTTCACC AACCAAGTGG | GCTCTCACTC CGAGAGTGAG |
| 1095 | AACATGGCAA TTGTACC GTT | GGAAGACCTT CCTTCTGGAA | AAATTCCCTC TTTAAGGGAG | GAGGACAAGG CTCCTGTTCC | CGTTCCAATT GCAAGGTTAA |
| 1145 | AACACCAATA TTGTGGTTAT | GCAGTCCAGA CGTCAGGTCT | TGACCAAATT ACTGGTTTAA | GGCTACTACC CCGATGATGG | GAAGAGCTAC CTTCTCGATG |
| 1195 | CAGACGAATT GTCTGC TTAA | CGTGGTGGTG GCACCACCAC | ACGGTAAAAT TGCCATTTTA | GAAAGATCTC CTTCTAGAG | AGTCCAAGAT TCAGGTTCTA |
| 1245 | GGTATTTCTA CCATAAAGAT | CTACCTAGGA GATGGATCCT | ACTGGGCCAG TGACCCGGTC | AAGCTGGACT TTCGACCTGA | TCCCTATGGT AGGGATACCA |
| 1295 | GCTAACAAAG CGATTGTTTC | ACGGCATCAT TGCCGTAGTA | ATGGGTTGCA TACCCAACGT | ACTGAGGGAG TGACTCCCTC | CCTTGAATAC GGAAGTTATG |
| 1345 | ACCAAAAGAT TGGTTTTCTA | CACATTGGCA GTGTAACCGT | CCCGCAATCC GGGCGTTAGG | TGCTAACAAAT ACGATTGTTA | GCTGCAATCG CGACGTTAGC |
| 1395 | TGCTACA ACT ACGATGTTGA | TCCTCAAGGA AGGAGTTCTT | ACAACATTGC TGTTGTAACG | CAAAAGGCTT GTTTCCGAA | CTACGCAGAA GATGCGTCTT |
| 1445 | GGGAGCAGAG CCCTCGTCTC | GCGGCAGTCA CGCCGTACAGT | AGCCTCTTCT TCGGAGAAGA | CGTTCCTCAT GCAAGGAGTA | CACGTAGTCG GTGCATCAGC |
| 1495 | CAACAGTTCA GTTGTCAAGT | AGAAATTCAA TCTTTAAGTT | CTCCAGGCAG GAGGTCCGTC | CAGTAGGGGA GTCATCCCTT | ACTTCTCCTG TGAAGAGGAC |
| 1545 | CTAGAATGGC GATCTTACCG | TGGCAATGGC ACCGTTACCG | GGTGATGCTG CCACTACGAC | CTCTTGCTTT GAGAACGAAA | GCTGCTGCTT CGACGACGAA |
| 1595 | GACAGATTGA CTGTCTA ACT | ACCAGCTTGA TGGTCGAACT | GAGCAAAATG CTCGTTTTAC | TCTGGTAAAG AGACCATTTC | GCCAACAACA CGGTTGTTGT |
| 1645 | ACAAGGCCAA TGTTCCGGTT | ACTGTCACTA TGACAGTGAT | AGAAATCTGC TCTTTAGACG | TGCTGAGGCT ACGACTCCGA | TCTAAGAAGC AGATTCTTCG |
| 1695 | CTCGGC AAAA GAGCCGTTTT | ACGTACTGCC TGCATGACGG | ACTAAAGCAT TGATTTTCGTA | ACAATGTAAAC TGTTACATTG | ACAAGCTTTC TGTTTCGAAAG |
| 1745 | GGCAGACGTG CCGTCTGCAC | GTC CAGAACA CAGGTCTTGT | AACCCAAGGA TTGGGTTCCCT | AATTTTGGGG TTAAAACCCC | ACCAGGAACT TGGTCTTGA |
| 1795 | AATCAGACAA TTAGTCTGTT | GGA ACTGATT CCTTGACTAA | ACAAACATTG TGTTTGTAAC | GCCGCAAATT CGGCGTTTAA | GCACAATTTG CGTGT TAAAC |
| 1845 | CCCCAGCGC GGGGTTCGCG | TTCAGCGTTC AAGTCGCAAG | TTCGGAATGT AAGCCTTACA | GCGCATTGG GCGCGTAACC | CATGGAAGTC GTACCTTCAG |
| 1895 | ACACCTTCGG TGTGGAAGCC | GAACGTGGTT CTTGCACCAA | GACCTACACA CTGGATGTGT | GGTGCCATCA CCACGGTAGT | AATTGGATGA TTAACCTACT |
| 1945 | CAAAGATCCA GTTTCTAGGT | AATTTCAAAG TTAAAGTTTC | ATCAAGTCAT TAGTTCAGTA | TTTGCTGAAT AAACGACTTA | AAGCATATTG TTCGTATAAC |

```

1995 ACGCATACAA AACATTCCCA CCAACAGAGC CTAAAAAGGA CAAAAAGAAG
      TGC GTATGTT TTGTAAGGGT GGTGTCTCG GATTTTCTCT GTTTTTCTTC

1995 ACGCATACAA AACATTCCCA CCAACAGAGC CTAAAAAGGA CAAAAAGAAG
      TGC GTATGTT TTGTAAGGGT GGTGTCTCG GATTTTCTCT GTTTTTCTTC

2045 AAGGCTGATG AAACCTCAAGC CTTACCGCAG AGACAGAAGA AACAGCAAAC
      TTCCGACTAC TTTGAGTTCC GAATGGCGTC TCTGTCTTCT TTGTCGTTTG

2095 TGTGACTCTT CTTCTGCTG CAGATTTGGA TGATTTCTCC AAACAATTGC
      ACAC TGAGAA GAAGGACGAC GTCTAAACCT ACTAAAGAGG TTTGTTAACG
                                     Myc tag
                                     E Q K L I

2145 AACAAATCCAT GAGCAGTGCT GACTCAACTC AGGCCGAGCA GAAACTCATC
      TTGTTAGGTA CTCGTCACGA CTGAGTTGAG TCCGGCTCGT CTTTGAGTAG
      S E E D L XbaI ApaI

2195 TCTGAAGAGG ATCTGTAATC TAGAGGGGCC GTTTA
      AGACTTCTCC TAGACATTAG ATCTCCCGGG CAAAT

```

➤ pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc)包括:

| | | | | | | |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| AgeI | AleI | AscI | AsiSI | BaeI | BamHI | BlpI |
| BsgI | BsiWI | BsmBI | BspDI | BspEI | BsrGI | BstEII |
| Bsu36I | ClaI | EcoNI | EcoRV | Esp3I | FseI | HpaI |
| NotI | PacI | PmlI | PpuMI | PshAI | SacII | SbfI |
| SfiI | SgrAI | SrfI | SwaI | | | |

➤ pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc)包括:

| | | | | | |
|----------|--|------|--------|------------------|------|
| Acc65I | G`GTAC,C | 917 | NarI | GG`CG,CC | 3486 |
| AfeI | AGC GCT | 1852 | NheI | G`CTAG,C | 895 |
| AflII | C`TTAA,G | 908 | NruI | TCG CGA | 208 |
| AhdI | GACNN,N`NNGTC | 5727 | Paer7I | C`TCGA,G | 1122 |
| ApaI | G,GGCC`C | 2223 | PciI | A`CATG,T | 4837 |
| BbvCI | CC`TCA,GC | 1677 | PfIMI | CCAN,NNN`NTGG | 1277 |
| BcgI | ,NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN` | 6232 | PluTI | G,GCGC`C | 3489 |
| BmgBI | CAC GTC | 1751 | PspOMI | G`GGCC,C | 2219 |
| BmtI | G,CTAG`C | 899 | PspXI | VC`TCGA,GB | 1122 |
| BsaBI | GATNN NNATC | 3345 | PvuI | CG,AT`CG | 6097 |
| BseRI | GAGGAG(N) ₈ ,NN` | 3272 | RsrII | CG`GWC,CG | 4002 |
| BsmI | GAATG,CN` | 4406 | SacI | G,AGCT`C | 818 |
| BssHII | G`CGCG,C | 3883 | ScaI | AGT ACT | 6207 |
| BstBI | TT`CG,AA | 4168 | SexAI | A`CCWGG,T | 3043 |
| BstXI | CCAN,NNNN`NTGG | 1936 | SfoI | GGC GCC | 3487 |
| BstZ17I | GTA TAC | 4458 | SmaI | CCC GGG | 3299 |
| CspCI | ,NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN` | 626 | SnaBI | TAC GTA | 590 |
| DraIII | CAC,NNN`GTG | 2753 | SpeI | A`CTAG,T | 249 |
| EagI | C`GGCC,G | 3392 | SspI | AAT ATT | 6531 |
| Eco53kI | GAG CTC | 816 | StuI | AGG CCT | 3275 |
| EcoO109I | RG`GNC,CY | 2219 | TspMI | C`CCGG,G | 3297 |
| EcoRI | G`AATT,C | 1200 | XbaI | T`CTAG,A | 2213 |
| KasI | G`GCGC,C | 3485 | XcmI | CCANNNN,N`NNNTGG | 1775 |
| KpnI | G,GTAC`C | 921 | XhoI | C`TCGA,G | 1122 |
| MluI | A`GCGC,T | 228 | XmaI | C`CCGG,G | 3297 |
| MscI | TGG CCA | 3568 | | | |

➤ pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc质粒中推荐的测序引物序列如下:

pcDNA3.1 primer (829-848): 5'- CTAGAGAACCCACTGCTTAC -3'

BGH pA primer (2244-2261): 5'- TAGAAGGCACAGTCGAGG -3'

➤ pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

➤ pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc质粒转染HEK293T细胞后的表达效果请参考图1:

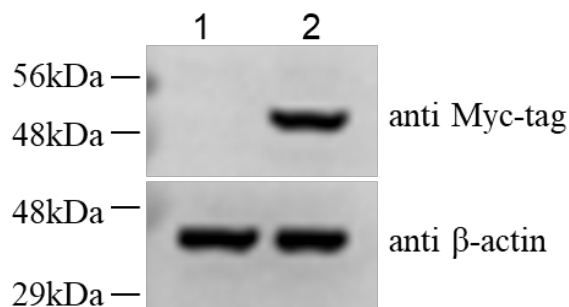


图1：Western blot实验检测SARS-CoV-2 N基因在HEK293T细胞的表达。1.转染pcDNA3.1空载质粒；2.转染pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc质粒。使用碧云天Lipo8000™转染试剂(C0533)将2μg pcDNA3.1或pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc质粒转染六孔板中密度为80%左右的HEK293T细胞，37°C恒温培养48h后，弃掉孔内培养液，PBS洗涤三遍后加入150μl Western及IP细胞裂解液(P0013)充分裂解，4°C离心，取上清用BCA法测蛋白浓度，然后经浓度4-20%的预制胶(P0524)电泳，每孔蛋白总量20μg，转膜、封闭后使用1:1000稀释的Myc抗体(AM926)室温孵育1h，洗涤后1:1000稀释的二抗(A0192)室温孵育1h，最后经BeyoELC Star(P0018AS)化学发光，并使用BeyoImager™ 600化学发光成像系统(EI600)拍照记录。

包装清单：

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|---------------------------|-------|
| D2943-1μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc | 1μg |
| D2943-100μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc | 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 |
|-------------|--------------------------------|-------|
| D2941-1μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-M-Myc | 1μg |
| D2941-100μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-M-Myc | 100μg |
| D2943-1μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc | 1μg |
| D2943-100μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc | 100μg |
| D2945-1μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-Spike-Myc | 1μg |
| D2945-100μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-Spike-Myc | 100μg |
| D2947-1μg | pCMV-SARS-CoV-2-E-Myc | 1μg |
| D2947-100μg | pCMV-SARS-CoV-2-E-Myc | 100μg |
| D2949-1μg | pcDNA3.1-ACE2-Flag | 1μg |
| D2949-100μg | pcDNA3.1-ACE2-Flag | 100μg |
| D2951-1μg | pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His | 1μg |
| D2951-100μg | pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His | 100μg |
| D2953-1μg | pUC18-SARS-CoV-2-ORF1ab(168bp) | 1μg |
| D2953-100μg | pUC18-SARS-CoV-2-ORF1ab(168bp) | 100μg |

Version 2020.03.25