

pcDNA3.1(+)-ACE2-Flag

产品编号	产品名称	包装
D2949-1 μ g	pcDNA3.1-ACE2-Flag	1 μ g
D2949-100 μ g	pcDNA3.1-ACE2-Flag	100 μ g

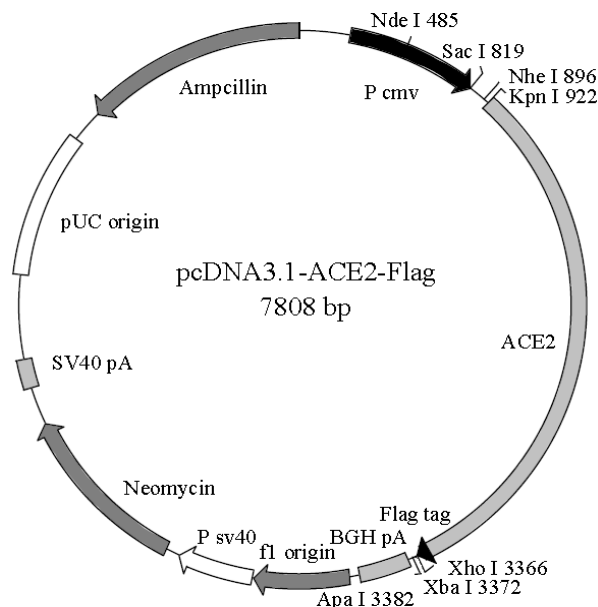
产品简介:

- pcDNA3.1-ACE2-Flag是碧云天研发的哺乳动物细胞表达质粒，用于表达C端带有FLAG标签(DYKDDDDK)的人血管紧张素转化酶2(Angiotensin converting enzyme2, ACE2)蛋白，可以方便使用抗Flag标签的抗体来识别ACE2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。
- ACE2是肾素-血管紧张素系统(Renin-angiotension system, RAS)的重要成员。血管紧张素(Angiotensin II, Ang II)是RAS系统的主要效应分子，具有促进内皮细胞凋亡和促进炎症因子表达的作用。ACE2主要是通过降解血管紧张素II生成血管紧张素1-7(angiotensin-(1-7))从而发挥机体保护功能。ACE2是在肺、心脏、肾脏和肠中表达的I型膜蛋白，其胞外域包括N端肽酶结构域(Peptidase domain, PD)及C端Collectrin-like结构域(CLD)。ACE2是SARS冠状病毒(SARS-CoV和SARS-CoV-2)和人类呼吸道冠状病毒NL63的受体。SARS-CoV/SARS-CoV-2通过其Spike蛋白受体结合域(Receptor binding domain, RBD)与ACE2的肽酶结构域结合，参与病毒的感染过程。SARS-CoV-2 Spike蛋白与ACE2的亲合力是SARS-CoV Spike蛋白与ACE2的亲合力的10-20倍。

- pcDNA3.1(+)-ACE2-Flag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
ACE2		923-3337
Flag-tag		3338-3361
BGH pA		3408-3632
f1 origin of ss-DNA replication		3678-4106
SV40 promoter		4111-4454
Neomycin resistance ORF		4516-5310
SV40 polyA signal		5484-5614
pUC origin		5997-6667
Ampicillin resistance ORF		6812-7808
bla promoter		7707-7713

- pcDNA3.1-ACE2-Flag质粒(7808bp)的图谱如下:



➤ pcDNA3.1-ACE2-Flag的多克隆位点的详细图谱如下：

	NheI	HindIII	KpnI	ACE2	
895	GCTAGCGTTT CGATCGCAAA	AAACTTAAGC TTTGAATTTCG	TTGGTACCAT AACCATGGTA	GTCAAGCTCT CAGTTCGAGA	TCCTGGCTCC AGGACCGAGG
945	TTCTCAGCCT AAGAGTCGGA	TGTTGCTGTA ACAACGACAT	ACTGCTGCTC TGACGACGAG	AGTCCACCAT TCAGGTGGTA	TGAGGAACAG ACTCCTTGTC
995	GCCAAGACAT CGGTTCTGTA	TTTTGGACAA AAAACCTGTT	GTTTAACCAC CAAATTGGTG	GAAGCCGAAG CTTCGGCTTC	ACCTGTTCTA TGGACAAGAT
1045	TCAAAGTTCA AGTTTCAAGT	CTTGCTTCTT GAACGAAGAA	GGAATTATAA CCTTAATATT	CACCAATATT GTGGTTATAA	ACTGAAGAGA TGACTTCTCT
1095	ATGTCCAAAA TACAGGTTTT	CATGAATAAT GTACTIONATTA	GCTGGGGACA CGACCCCTGT	AATGGTCTGC TTACCAGACG	CTTTTTAAAG GAAAAATTTT
1145	GAACAGTCCA CTTGTCAGGT	CACTTGCCCA GTGAACGGGT	AATGTATCCA TTACATAGGT	CTACAAGAAA GATGTTCTTT	TTCAGAATCT AAGTCTTAGA
1195	CACAGTCAAG GTGTCAGTTC	CTTCAGCTGC GAAGTCGACG	AGGCTCTTCA TCCGAGAAGT	GCAAAATGGG CGTTTTACCC	TCTTCAGTGC AGAAGTCACG
1245	TCTCAGAAGA AGAGTCTTCT	CAAGAGCAAA GTTCTCGTTT	CGGTTGAACA GCCAACTTGT	CAATTCTAAA GTTAAGATTT	TACAATGAGC ATGTTACTCG
1295	ACCATCTACA TGGTAGATGT	GTACTIONGAAA CATGACCTTT	AGTTTGTAAAC TCAAACATTG	CCAGATAATC GGTCTATTAG	CACAAGAATG GTGTTCTTAC
1345	CTTATTACTT GAATAATGAA	GAACCAGGTT CTGGTCCAA	TGAATGAAAT ACTTACTTTA	AATGGCAAAC TTACCGTTTG	AGTTTAGACT TCAAATCTGA
1395	ACAATGAGAG TGTTACTCTC	GCTCTGGGCT CGAGACCCGA	TGGGAAAGCT ACCCTTTCGA	GGAGATCTGA CCTCTAGACT	GGTCGGCAAG CCAGCCGTTT
1445	CAGCTGAGGC GTCGACTCCG	CATTATATGA GTAATATACT	AGAGTATGTG TCTCATACAC	GTCTTGAAAA CAGAACTTTT	ATGAGATGGC TACTCTACCG
1495	AAGAGCAAAT TTCTCGTTTA	CATTATGAGG GTAATACTCC	ACTATGGGGA TGATACCCCT	TTATTGGAGA AATAACCTCT	GGAGACTATG CCTCTGATAC
1545	AAGTAAATGG TTCATTTACC	GGTAGATGGC CCATCTACCG	TATGACTACA ATACTGATGT	GCCGCGGCCA CGGCGCCGGT	GTTGATTGAA CAACTAACTT
1595	GATGTGGAAC CTACACCTTG	ATACCTTTGA TATGGAAACT	AGAGATTAAA TCTCTAATTT	CCATTATATG GGTAATATAC	AACATCTTCA TTGTAGAAGT
1645	TGCCTATGTG ACGGATACAC	AGGGCAAAGT TCCCGTTTCA	TGATGAATGC ACTACTTACG	CTATCCTTCC GATAGGAAGG	TATATCAGTC ATATAGTCAG
1695	CAATTGGATG GTTAACCTAC	CCTCCCTGCT GGAGGGACGA	CATTTGCTTG GTAAACGAAC	GTGATATGTG CACTATACAC	GGGTAGATTT CCCATCTAAA
1745	TGGACAAATC ACCTGTTTAC	TGTACTIONCTTT ACATGAGAAA	GACAGTTCCC CTGTCAAGGG	TTTGGACAGA AAACCTGTCT	AACCAAACAT TTGGTTTGTG
1795	AGATGTTACT TCTACAATGA	GATGCAATGG CTACGTTACC	TGGACCAGGC ACCTGGTCCG	CTGGGATGCA GACCCTACGT	CAGAGAATAT GTCTCTTATA
1845	TCAAGGAGGC AGTTCCCTCCG	CGAGAAGTTC GCTCTTCAAG	TTTGTATCTG AAACATAGAC	TTGGTCTTCC AACCAGAAGG	TAATATGACT ATTATACTGA
1895	CAAGGATTCT GTTCCTAAGA	GGGAAAATTC CCCTTTTAAAG	CATGCTAACG GTACGATTGC	GACCCAGGAA CTGGGTCCCT	ATGTTTCAGAA TACAAGTCTT
1945	AGCAGTCTGC TCGTCAGACG	CATCCACAG GTAGGGTGTC	CTTGGGACCT GAACCCTGGA	GGGGAAGGGC CCCCTTCCCG	GACTTCAGGA CTGAAGTCCT

1995 TCCTTATGTG CACAAAGGTG ACAATGGACG ACTTCCTGAC AGCTCATCAT
AGGAATACAC GTGTTTCCAC TGTTACCTGC TGAAGGACTG TCGAGTAGTA

2045 GAGATGGGGC ATATCCAGTA TGATATGGCA TATGCTGCAC AACCTTTTCT
CTCTACCCCG TATAGGTCAT ACTATACCGT ATACGACGTG TTGGAAAAGA

2095 GCTAAGAAAT GGAGCTAATG AAGGATTCCA TGAAGCTGTT GGGGAAATCA
CGATTCTTTA CCTCGATTAC TTCCTAAGGT ACTTCGACAA CCCCTTTAGT

2145 TGTCACCTTC TGCAGCCACA CCTAAGCATT TAAAATCCAT TGGTCTTCTG
ACAGTGAAAG ACGTCGGTGT GGATTTCGTAA ATTTTAGGTA ACCAGAAGAC

2195 TCACCCGATT TTCAAGAAGA CAATGAAACA GAAATAAACT TCCTGCTCAA
AGTGGGCTAA AAGTTCTTCT GTTACTTTGT CTTTATTTGA AGGACGAGTT

2245 ACAAGCACTC ACGATTGTTG GGA CTCTGCC ATTTACTTAC ATGTTAGAGA
TGTTTCGTGAG TGCTAACAAAC CCTGAGACGG TAAATGAATG TACAATCTCT

2295 AGTGGAGGTG GATGGTCTTT AAAGGGGAAA TTCCCAAAGA CCAGTGGATG
TCACCTCCAC CTACCAGAAA TTTCCCCTTT AAGGGTTTCT GGTCACCTAC

2345 AAAAAGTGGT GGGAGATGAA GCGAGAGATA GTTGGGGTGG TGGAACCTGT
TTTTTCACCA CCCTCTACTT CGCTCTCTAT CAACCCACC ACCTTGGACA

2395 GCCCCATGAT GAAACATACT GTGACCCCGC ATCTCTGTTT CATGTTTCTA
CGGGGTACTA CTTTGTATGA CACTGGGGCG TAGAGACAAG GTACAAAGAT

2445 ATGATTACTC ATTCATTCGA TATTACACAA GGACCCTTTA CCAATTCAG
TACTAATGAG TAAGTAAGCT ATAATGTGTT CCTGGGAAAT GGTTAAGGTC

2495 TTTCAAGAAG CACTTTGTCA AGCAGCTAAA CATGAAGGCC CTCTGCACAA
AAAGTTCTTC GTGAAACAGT TCGTCGATTT GTACTTCCGG GAGACGTGTT

2545 ATGTGACATC TCAAACCTCTA CAGAAGCTGG ACAGAAACTG TTCAATATGC
TACACTGTAG AGTTTGAGAT GTCTTCGACC TGCTTTGAC AAGTTATACG

2595 TGAGGCTTGG AAAATCAGAA CCCTGGACCC TAGCATTGGA AAATGTTGTA
ACTCCGAACC TTTTAGTCTT GGGACCTGGG ATCGTAACCT TTTACAACAT

2645 GGAGCAAAGA ACATGAATGT AAGGCCACTG CTCAACTACT TTGAGCCCTT
CCTCGTTTCT TGTACTTACA TTCCGGTGAC GAGTTGATGA AACTCGGGAA

2695 ATTTACCTGG CTGAAAGACC AGAACAAGAA TTCTTTTGTG GGATGGAGTA
TAAATGGACC GACTTTCTGG TCTTGTCTT AAGAAAACAC CCTACCTCAT

2745 CCGACTGGAG TCCATATGCA GACCAAAGCA TCAAAGTGAG GATAAGCCTA
GGCTGACCTC AGGTATACGT CTGGTTTCGT AGTTTCACTC CTATTCGGAT

2795 AAATCAGCTC TTGGAGATAA AGCATATGAA TGGAACGACA ATGAAATGTA
TTTAGTCGAG AACCTCTATT TCGTATACTT ACCTTGCTGT TACTTTACAT

2845 CCTGTTCGGA TCATCTGTTG CATATGCTAT GAGGCAGTAC TTTTTAAAAG
GGACAAGGCT AGTAGACAAC GTATACGATA CTCCGTCATG AAAAATTTTC

2895 TAAAAAATCA GATGATTCTT TTTGGGGAGG AGGATGTGCG AGTGGCTAAT
ATTTTTTAGT CTACTAAGAA AAACCCCTCC TCCTACACGC TCACCGATTA

2945 TTGAAACCAA GAATCTCCTT TAATTTCTTT GTCACCTGCAC CTAAAAATGT
AACTTTGGTT CTAGAGGAA ATTAAAGAAA CAGTGACGTG GATTTTTACA

2995 GTCTGATATC ATTCCTAGAA CTGAAGTTGA AAAGGCCATC AGGATGTCCC
CAGACTATAG TAAGGATCTT GACTTCAACT TTTCCGGTAG TCCTACAGGG

3045 GGAGCCGTAT CAATGATGCT TTCCGTCTGA ATGACAACAG CCTAGAGTTT
CCTCGGCATA GTTACTACGA AAGGCAGACT TACTGTTGTC GGATCTCAAA

3095 CTGGGGATAC AGCCAACACT TGGACCTCCT AACCAGCCCC CTGTTTCCAT
GACCCCTATG TCGGTTGTGA ACCTGGAGGA TTGGTCGGGG GACAAAGGTA

```

3145 ATGGCTGATT GTTTTTGGAG TTGTGATGGG AGTGATAGTG GTTGGCATTG
TACCGACTAA CAAAAACCTC AACACTACCC TCACTATCAC CAACCGTAAC

3195 TCATCCTGAT CTTCACTGGG ATCAGAGATC GGAAGAAGAA AAATAAAGCA
AGTAGGACTA GAAGTGACCC TAGTCTCTAG CCTTCTTCTT TTTATTTTCGT

3245 AGAAGTGGAG AAAATCCTTA TGCCTCCATC GATATTAGCA AAGGAGAAAA
TCTTCACCTC TTTTAGGAAT ACGGAGGTAG CTATAATCGT TTCCTCTTTT

Flag
D Y
3295 TAATCCAGGA TTCCAAAACA CTGATGATGT TCAGACCTCC TTTGATTACA
ATTAGGTCCT AAGGTTTTGT GACTACTACA AGTCTGGAGG AAACATAATGT
tag
K D D D D K XhoI XbaI ApaI
3345 AGGATGACGA CGATAAGTAG CTCGAGTCTA GAGGGCCCGT TTA
TCCTACTGCT GCTATTCATC GAGCTCAGAT CTCCCGGGCA AAT

```

➤ pcDNA3.1-ACE2-Flag中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pcDNA3.1-ACE2-Flag)包括:

AfeI	AgeI	AscI	AsiSI	BaeI	BlpI	BmgBI
BsiWI	BsmBI	BspEI	BsrGI	BstEII	BstXI	Bsu36I
Esp3I	FseI	HpaI	NotI	PacI	PmlI	SbfI
SfiI	SgrAI	SrfI	SwaI			

➤ pcDNA3.1-ACE2-Flag中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pcDNA3.1-ACE2-Flag)包括:

Acc65I	G`GTAC,C	917	NarI	GG`CG,CC	4644
AflII	C`TTAA,G	908	NheI	G`CTAG,C	895
ApaI	G,GGCC`C	3381	NruI	TCG CGA	208
AvrII	C`CTAG,G	4434	PaeR7I	C`TCGA,G	3365
BamHI	G`GATC,C	1992	PflFI	GACN`N,NGTC	4762
BcgI	,NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN`	7390	PluTI	G,GCGC`C	4647
BmtI	G,CTAG`C	899	PshAI	GACNN NNGTC	2751
BsaBI	GATNN NNATC	4503	PspOMI	G`GGCC,C	3377
BspDI	AT`CG,AT	3273	PspXI	VC`TCGA,GB	3365
BssHII	G`CGCG,C	5041	PvuI	CG,AT`CG	7255
BstBI	TT`CG,AA	5326	RsrII	CG`GWC,CG	5160
BstZ17I	GTA TAC	5616	SacI	G,AGCT`C	818
ClaI	AT`CG,AT	3273	SacII	CC,GC`GG	1579
CspCI	,NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ ,NN`	626	SfoI	GGC GCC	4645
DraIII	CAC,NNN`GTG	3911	SmaI	CCC GGG	4457
EagI	C`GGCC,G	4550	SnaBI	TAC GTA	590
Eco53kI	GAG CTC	816	SpeI	A`CTAG,T	249
EcoRI	G`AATT,C	2722	TspMI	C`CCGG,G	4455
EcoRV	GAT ATC	3001	Tth111I	GACN`N,NGTC	4762
KasI	G`GCGC,C	4643	XbaI	T`CTAG,A	3371
KpnI	G,GTAC`C	921	XhoI	C`TCGA,G	3365
MluI	A`CGCG,T	228	XmaI	C`CCGG,G	4455
MscI	TGG CCA	4726			

➤ pcDNA3.1-ACE2-Flag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 (3402-3419): 5'-TAGAAGGCACAGTCGAGG-3'

➤ pcDNA3.1-ACE2-Flag的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

➤ pcDNA3.1-ACE2-Flag质粒转染HKE293T细胞后的表达效果请参考图1:

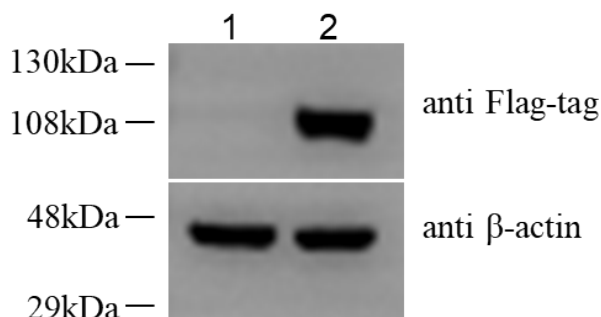


图1: Western blot实验检测SARS-CoV-2 N基因在HEK293T细胞的表达。1.转染pcDNA3.1空载质粒; 2.转染pcDNA3.1-SARS-CoV-2-ACE2-Flag质粒。使用碧云天Lipo8000™转染试剂(碧云天C0533)将2μg pcDNA3.1或

pcDNA3.1-SARS-CoV-2-ACE2-Flag质粒转染六孔板中密度为80%左右的HEK293T细胞，37℃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(碧云天P0013)充分裂解，4℃离心，取上清用BCA法测蛋白浓度，然后经浓度4-20%的预制胶(碧云天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
D2949-1μg	pcDNA3.1-ACE2-Flag	1μg
D2949-100μg	pcDNA3.1-ACE2-Flag	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：

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0.1μg/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