

pCMV-Cre-mCherry

产品编号	产品名称	包装
D2607-1μg	pCMV-Cre-mCherry	1μg
D2607-100μg	pCMV-Cre-mCherry	100μg

产品简介：

- pCMV-Cre-mCherry是碧云天自行研发的含有CMV启动子的用于在哺乳动物细胞中表达带有mCherry (DsRed的突变体, 一种非常明亮的红色荧光蛋白)标签的Cre Recombinase (Cre重组酶)的表达质粒。来自条件性基因敲除(conditional knockout) 小鼠等含有预先插入 $loxP$ 位点的细胞在转染本质粒后, 本质粒表达的Cre Recombinase可以导致两个 $loxP$ 位点间的基因删除, 从而实现条件性基因敲除(conditional gene knockout)。
- Cre重组酶是来源于大肠杆菌噬菌体P1的一种类型I的拓扑异构酶(Type I topoisomerase), 也是一种酪氨酸重组酶(tyrosine recombinase), 它可识别34bp的 $loxP$ 位点(两端为两个13bp的反向重复序列(inverted repeats), 中间是8bp的间隔区(图1)并催化 $loxP$ 位点之间的DNA发生重组; 重组产物根据 $loxP$ 位点的位置和相对方向的不同而不同, 两个含单 $loxP$ 位点的DNA将发生融合: 两个正向重复的 $loxP$ 位点间的DNA将以环状形式被切割, 而两个反向 $loxP$ 位点间的DNA序列将被翻转(图2)。



图1. $loxP$ 位点序列图。Cre重组酶与两端13bp反向重复序列(小写字母)结合, 中间是8bp不对称中心间隔区(大写字母), 箭头所示为Cre重组酶的酶切位点。

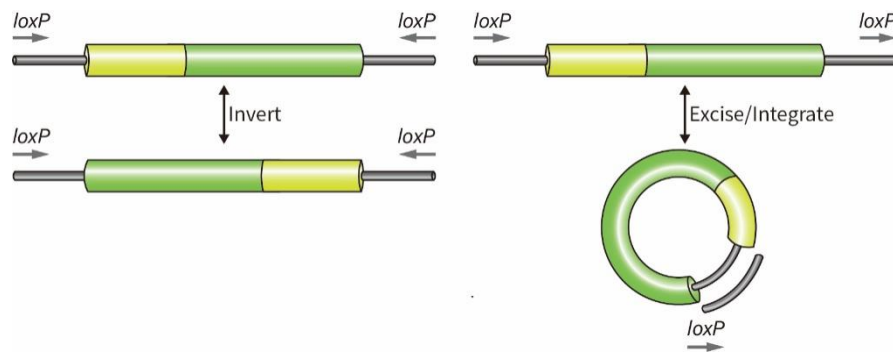


图2. Cre- $loxP$ 位点特异性重组示意图。

- pCMV-Cre-mCherry质粒转染HeLa细胞后的荧光表达效果, 可以看到mCherry标签的Cre重组酶主要分布在细胞核中(图3)。

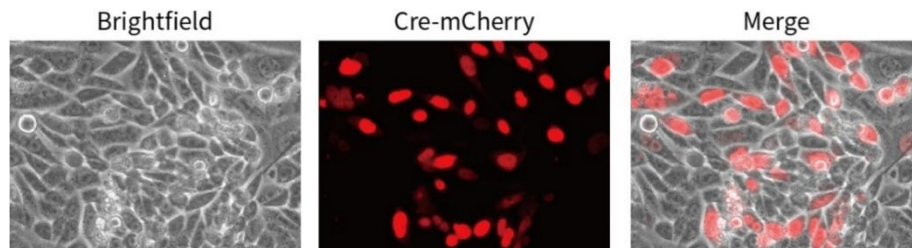


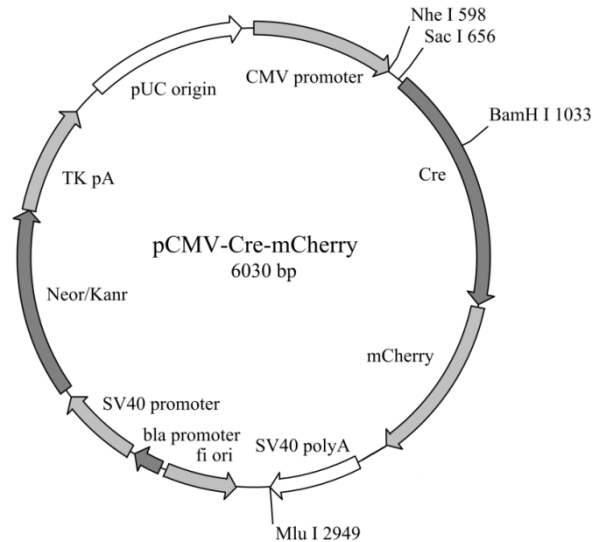
图3. pCMV-Cre-mCherry质粒转染HeLa细胞后的表达效果图。左图为明场照片, 中图为荧光照片, 右图为叠加照片。

- 本质粒为卡那霉素抗性, 转染细胞后, 可使用G418筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-Cre-mCherry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
Cre recombinase		677-1705
mCherry		1718-2428

multiple cloning site	2340-2488
T7 promoter and T7 primer binding site	2532-2553
SV40 polyA signal	2565-2948
f1 origin of ss-DNA replication	3086-3390
bla promoter	3415-3539
SV40 promoter	3559-3897
neomycin/kanamycin resistance ORF	3932-4723
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	4724-5182
pUC origin	5311-5978

➤ pCMV-Cre-mCherry质粒(6030bp)的图谱如下:



➤ pCMV-Cre-mCherry的详细图谱如下:

Cre recombinase

```

651  GAGCTCTAGC GCTACCGGTC GCCACCATGT CCAATTTACT GACCGTACAC
      CTCGAGATCG CGATGGCCAG CGGTGGTACA GGTTAAATGA CTGGCATGTG

701  CAAAATTTGC CTGCATTACC GGTCGATGCA ACGAGTGATG AGGTTGCGAA
      GTTTTAAACG GACGTAATGG CCAGCTACGT TGCTCACTAC TCCAAGCGTT

751  GAACCTGATG GACATGTTCA GGGATCGCCA GGCGTTTTCT GAGCATACT
      CTTGGACTAC CTGTACAAGT CCCTAGCGGT CCGCAAAGA CTCGTATGGA

801  GGAAAATGCT TCTGTCCGTT TGCCGGTTCG GGGCGGCATG GTGCAAGTTG
      CCTTTTACGA AGACAGGCAA ACGGCCAGCA CCCGCCGTAC CACGTTCAAC

851  AATAACCGGA AATGGTTTCC CGCAGAACCT GAAGATGTTT GCGATTATCT
      TTATTGGCCT TTACCAAAGG GCGTCTTGGA CTTCTACAAG CGCTAATAGA

901  TCTATATCTT CAGGCGCGCG GTCTGGCAGT AAAAATATC CAGCAACATT
      AGATATAGAA GTCCGCGCGC CAGACCGTCA TTTTGTATAG GTCGTTGTAA

951  TGGGCCAGCT AAACATGCTT CATCGTCGGT CCGGGCTGCC ACGACCAAGT
      ACCCGGTCGA TTTGTACGAA GTAGCAGCCA GGCCCACGG TGCTGGTTCA

1001 GACAGCAATG CTGTTTCACT GGTTATGCGG CGGATCCGAA AAGAAAACGT
      CTGTGCTTAC GACAAAGTGA CCAATACGCC GCCTAGGCTT TTCTTTTGCA

1051 TGATGCCGGT GAACGTGCAA AACAGGCTCT AGCGTTCGAA CGCACTGATT
      ACTACGGCCA CTTGCACGTT TTGTCCGAGA TCGCAAGCTT GCGTACTAA

```

1101 TCGACCAGGT TCGTTCACTC ATGGAAAATA GCGATCGCTG CCAGGATATA
AGCTGGTCCA AGCAAGTGAG TACCTTTTAT CGCTAGCGAC GGTCTATAT

1151 CGTAATCTGG CATTCTGGG GATTGCTTAT AACACCCTGT TACGTATAGC
GCATTAGACC GTAAAGACCC CTAACGAATA TTGTGGGACA ATGCATATCG

1201 CGAAATTGCC AGGATCAGGG TTAAAGATAT CTCACGTACT GACGGTGGGA
GCTTTAACGG TCCTAGTCCC AATTTCTATA GAGTGCATGA CTGCCACCCT

1251 GAATGTTAAT CCATATTGGC AGAACGAAAA CGCTGGTTAG CACCGCAGGT
CTTACAATTA GGTATAACCG TCTTGCTTTT GCGACCAATC GTGGCGTCCA

1301 GTAGAGAAGG CACTTAGCCT GGGGGTAACT AAAGTGGTCG AGCGATGGAT
CATCTCTTCC GTGAATCGGA CCCCATTGA TTTGACCAGC TCGCTACCTA

1351 TTCCGTCTCT GGTGTAGCTG ATGATCCGAA TAACTACCTG TTTTGCCGGG
AAGGCAGAGA CCACATCGAC TACTAGGCTT ATTGATGGAC AAAACGGCCC

1401 TCAGAAAAAA TGGTGTGTC GCGCCATCTG CCACCAGCCA GCTATCAACT
AGTCTTTTTT ACCACAACGG CGCGGTAGAC GGTGGTCGGT CGATAGTTGA

1451 CGCGCCCTGG AAGGGATTTT TGAAGCAACT CATCGATTGA TTTACGGCGC
GCGCGGGACC TTCCCTAAAA ACTTCGTTGA GTAGCTAACT AAATGCCGCG

1501 TAAGGATGAC TCTGGTCAGA GATACCTGGC CTGGTCTGGA CACAGTGCCC
ATTCTACTG AGACCAGTCT CTATGGACCG GACCAGACCT GTGTCACGGG

1551 GTGTCCGAGC CGCGCGAGAT ATGGCCCGCG CTGGAGTTTC AATACCGGAG
CACAGCCTCG GCGCGCTCTA TACCGGGCGC GACCTCAAAG TTATGGCCTC

1601 ATCATGCAAG CTGGTGGCTG GACCAATGTA AATATTGTCA TGAATATAT
TAGTACGTTT GACCACCGAC CTGGTTACAT TTATAACAGT ACTTGATATA

1651 CCGTAACCTG GATAGTGAAG CAGGGGCAAT GGTGCGCCTG CTGGAAGATG
GGCATTGGAC CTATCACTTT GTCCCCGTTA CCACGCGGAC GACCTTCTAC

mCherry

1701 GCGATGGTAG TGGTAGTATG GTGAGCAAGG GCGAGGAGGA TAACATGGCC
CGCTACCATC ACCATCATA CACTCGTTCC CGCTCCTCCT ATTGTACCGG

1751 ATCATCAAGG AGTTCATGCG CTTCAAGGTG CACATGGAGG GCTCCGTGAA
TAGTAGTTCC TCAAGTACGC GAAGTTCCAC GTGTACCTCC CGAGGCACTT

1801 CGGCCACGAG TTCGAGATCG AGGGCGAGGG CGAGGGCCGC CCCTACGAGG
GCCGGTGCTC AAGCTCTAGC TCCCGCTCCC GCTCCCGGCG GGGATGCTCC

1851 GCACCCAGAC CGCCAAGCTG AAGGTGACCA AGGGTGGCCC CCTGCCCTTC
CGTGGGTCTG GCGGTTCGAC TTCCACTGGT TCCCACCGGG GGACGGGAAG

1901 GCCTGGGACA TCCTGTCCCC TCAGTTCATG TACGGCTCCA AGGCCTACGT
CGGACCCTGT AGGACAGGGG AGTCAAGTAC ATGCCGAGGT TCCGGATGCA

1951 GAAGCACCCC GCCGACATCC CCGACTACTT GAAGCTGTCC TTCCCCGAGG
CTTCGTGGGG CGGCTGTAGG GGCTGATGAA CTTTCGACAGG AAGGGGCTCC

2001 GCTTCAAGTG GGAGCGCGTG ATGAACTTCG AGGACGGCGG CGTGGTGACC
CGAAGTTCAC CCTCGCGCAC TACTTGAAGC TCCTGCCGCC GCACCACTGG

2051 GTGACCCAGG ACTCCTCCCT GCAGGACGGC GAGTTCATCT ACAAGGTGAA
CACTGGGTCC TGAGGAGGGA CGTCCTGCCG CTCAAGTAGA TGTTCACCTT

2101 GCTGCGCGGC ACCAACTTCC CCTCCGACGG CCCCATAATG CAGAAGAAG
CGACGCGCCG TGGTTGAAGG GGAGGCTGCC GGGGCATTAC GTCTTCTTCT

2151 CCATGGGCTG GGAGGCCTCC TCCGAGCGGA TGTACCCCGA GGACGGCGCC
GGTACCCGAC CCTCCGAGG AGGCTCGCCT ACATGGGGCT CCTGCCGCGG

2201 CTGAAGGGCG AGATCAAGCA GAGGCTGAAG CTGAAGGACG GCGGCCACTA
GACTTCCCGC TCTAGTTCGT CTCCGACTTC GACTTCCTGC CGCCGGTGAT

2251 CGACGCTGAG GTCAAGACCA CCTACAAGGC CAAGAAGCCC GTGCAGCTGC
GCTGCGACTC CAGTTCGGT GGATGTTCCG GTTCTTCGGG CACGTCGACG

2301 CCGGCGCCTA CAACGTCAAC ATCAAGTTGG ACATCACCTC CCACAACGAG
GGCCGCGGAT GTTGCAGTTG TAGTTCAACC TGTAGTGGAG GGTGTTGCTC

2351 GACTACACCA TCGTGAACA GTACGAACGC GCCGAGGGCC GCCACTCCAC
CTGATGTGGT AGCACCTTGT CATGCTTGCG CGGCTCCCGG CGGTGAGGTG

2401 CGGCGGCATG GACGAGCTGT ACAAGTAGAA GCTTCTGCAG GAATTCGATA
GCCGCCGTAC CTGCTCGACA TGTTTCATCTT CGAAGACGTC CTTAAGCTAT
HindIII EcoRI
SalI BglII XhoI XbaI SpeI ApaI

2451 TCGTCGACAG ATCTCTCGAG TCTAGAATA GTGGGCCCGG TACCTTAATT
AGCAGCTGTC TAGAGAGCTC AGATCTTGAT CACCCGGGCC ATGGAATTAA

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

AflII	AscI	BaeI	BlpI	BmgBI	BsiWI	BspEI
BspQI	BstXI	BstZ17I	EarI	EcoNI	FseI	NotI
PmeI	PmlI	PpuMI	PspXI	SacII	SapI	ScaI
SmaI	SrfI	SwaI	TspMI	XmaI		

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

AccI	GT`MK, AC	2454	Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	1360
AclI	AA`CG, TT	1047	HindIII	A`AGCT, T	2430
AfeI	AGC GCT	660	HpaI	GTT AAC	2825
AhdI	GACNN, N`NNGTC	1911	MfeI	C`AATT, G	2812
AleI	CACNN NNGTG	2360	MluI	A`CGCG, T	2948
ApaI	G, GGCC`C	2488	NdeI	CA`TA, TG	240
AsiSI	GCG, AT`CGC	1133	NheI	G`CTAG, C	597
BamHI	G`GATC, C	1032	NruI	TCG CGA	891
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	2153	Paer7I	C`TCGA, G	2465
BbvCI	CC`TCA, GC	2256	PaqCI	CACCTGCNNNN`NNNN,	1286
BcgI	, NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₅ TGC(N) ₁₀ , NN`	1079	PflFI	GACN`N, NGTC	4178
BclI	T`GATC, A	2719	PflMI	CCAN, NNN`NTGG	2154
BglIII	A`GATC, T	2460	PshAI	GACNN NNGTC	1512
BmtI	G, CTAG`C	597	PspOMI	G`GGCC, C	2483
BsaI	GGTCTCN`NNNN,	5049	SacI	G, AGCT`C	651
BsgI	GTGCAG(N) ₁₄ , NN`	2310	SalI	G`TCGA, C	2454
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	1360	SbfI	CC, TGCA`GG	2069
BsrGI	T`GTAC, A	2418	SfiI	GGCCN, NNN`NGGCC	3832
BssHII	G`CGCG, C	918	SgrAI	CR`CCGG, YG	2399
BtsI	GCAGTG, NN`	2899	SpeI	A`CTAG, T	2478
CspCI	, NN`(N) ₁₁ CAA(N) ₅ GTGG(N) ₁₀ , NN`	380	Tth111I	GACN`N, NGTC	4178
DraIII	CAC, NNN`GTG	3175	XbaI	T`CTAG, A	2472
EagI	C`GGCC, G	3966	XcmI	CCANNNN, N`NNNNTGG	2403
Eco53I	GAG CTC	653	XhoI	C`TCGA, G	2466

- 如需对pCMV-Cre-mCherry质粒中插入片段Cre-mCherry进行测序时，推荐使用的正向测序引物T3和反向测序引物T7的序列如下：

T3 primer (620-639): 5' AATTAACCCTCACTAAAGGG 3'

T7 primer (2532-2553): 5' GTAATACGACTCACTATAGGGC 3'

- pCMV-Cre-mCherry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
D2607-1μg	pCMV-Cre-mCherry	1μg
D2607-100μg	pCMV-Cre-mCherry	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0.1μg/μl，共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。