

## pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo

产品编号	产品名称	包装
D2673-1 $\mu$ g	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo	1 $\mu$ g
D2673-100 $\mu$ g	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo	100 $\mu$ g

### 产品简介:

- pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo是碧云天研发的用于在哺乳动物细胞中同时表达目的蛋白、增强绿色荧光蛋白EGFP和新霉素(Neomycin)抗性基因的表达式质粒。
- 本质粒含有的CMV启动子可以高效启动目的基因的表达，同时可以通过P2A共表达增强绿色荧光蛋白EGFP，便于通过EGFP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。

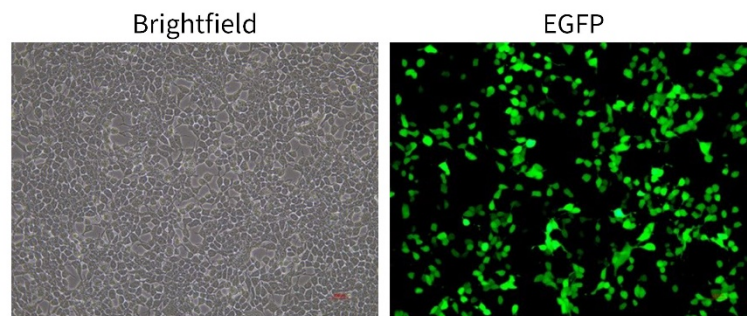


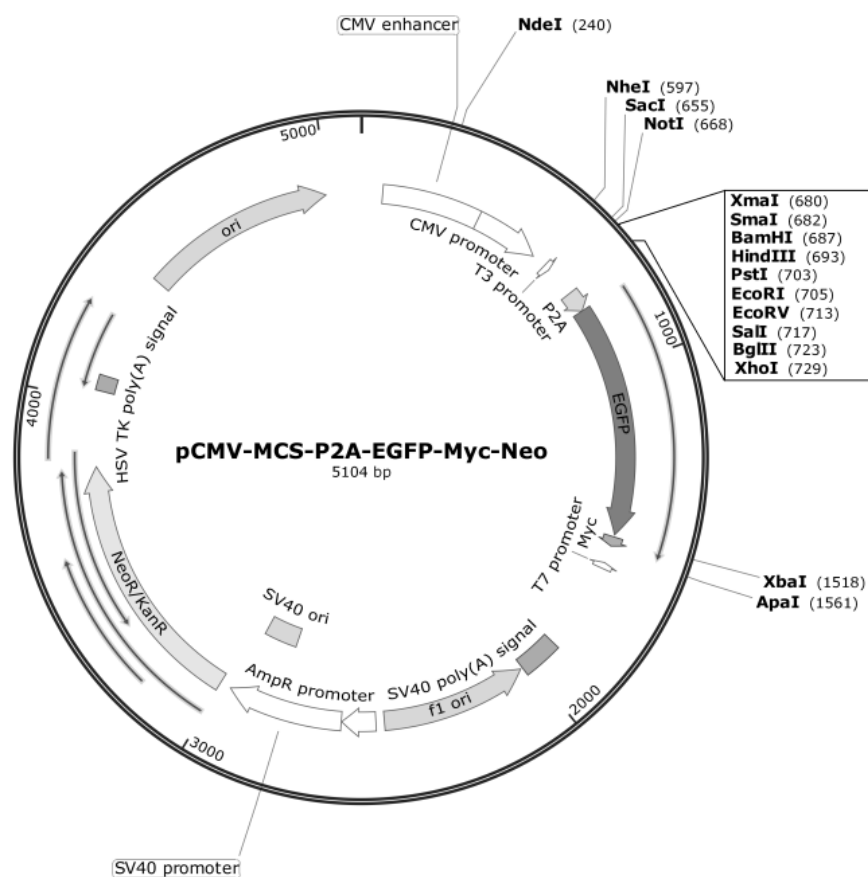
图1. 碧云天pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片，右侧为荧光照片。本图仅供参考，实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 本质粒在多克隆位点和EGFP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]。
- 本质粒为卡那霉素(Kanamycin)和新霉素(Neomycin)抗性。可利用其卡那霉素抗性，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G-418 (ST081/ST082)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。

- pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
CMV enhancer	67-370
CMV promoter	371-574
T3 promoter	620-638
P2A	744-800
EGFP	801-1517
Myc	1524-1553
T7 promoter	1608-1626
SV40 poly(A) signal	1900-2021
f1 ori	2028-2481
AmpR promoter	2508-2612
SV40 promoter	2614-2971
SV40 ori	2822-2957
NeoR/KanR	3006-3800
HSV TK poly(A) signal	4032-4079
Ori	4408-4996

- pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo质粒(5104bp)的图谱如下:



➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo的多克隆位点的详细图谱如下：

	SacI	NotI	XmaI	SmaI	BamHI	HindIII	PstI
651	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCTCTAGC	CCGGGCGGAT	CCAAGCTTCT		
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGAGATCG	GGCCCCGCTA	GGTTCGAAGA		
							P2A sequence
701	GCAGGAATTC	GATATCGTCG	ACAGATCTCT	CGAGGGAAGC	GGAGCTACTA		A T N
	CGTCCTTAAG	CTATAGCAGC	TGTCTAGAGA	GCTCCCTTCG	CCTCGATGAT		
							F S L L K Q A G D V E E N P G p
751	ACTTCAGCCT	GCTGAAGCAG	GCTGGAGACG	TGGAGGAGAA	CCCTGGACCT		
	TGAAGTCGGA	CGACTTCGTC	CGACCTCTGC	ACCTCCTCTT	GGGACCTGGA		
							EGFP sequence
801	ATGGTGAGCA	AGGGCGAGGA	GCTGTTCACC	GGGGTGGTGC	CCATCCTGGT		
	TACCACTCGT	TCCCCTCCT	CGACAAGTGG	CCCCACCACG	GGTAGGACCA		
851	CGAGCTGGAC	GGCGACGTAA	ACGCCACAA	G TTCAGCGTG	TCCGCGGAGG		
	GCTCGACCTG	COGCTGCATT	TGCCGGTGTT	CAAGTCGCAC	AGGCCGCTCC		
901	GCGAGGGCGA	TGCCACCTAC	GGCAAGCTGA	CCCTGAAGTT	CATCTGCACC		
	CGTCCCCTGCT	ACGGTGGATG	CCGTTCGACT	GGGACTTCAA	G TAGACGTGG		
951	ACCGGCAAGC	TGCCCGTGCC	CTGGCCCACC	CTCGTGACCA	CCCTGACCTA		
	TGGCCGTTTCG	ACGGGCACGG	GACCGGGTGG	GAGCACTGGT	GGGACTGGAT		
1001	CGGCGTGCAG	TGCTTCAGCC	GCTACCCCGA	CCACATGAAG	CAGCAGCACT		
	GCCGCACGTC	ACGAAGTCGG	CGATGGGGCT	GGTGTACTTC	GTCGTGCTGA		

1051 TCTTCAAGTC CGCCATGCCC GAAGGCTACG TCCAGGAGCG CACCATCTTC  
AGAAGTTCAG GCGGTACGGG CTTCCGATGC AGGTCCTCGC GTGGTAGAAG

1101 TTCAAGGACG ACGGCAACTA CAAGACCCGC GCCGAGGTGA AGTTCGAGGG  
AAGTTCCTGC TGCCGTTGAT GTTCTGGGCG CGGCTCCACT TCAAGCTCCC

1151 CGACACCCTG GTGAACCGCA TCGAGCTGAA GGCATCGAC TTCAAGGAGG  
GCTGTGGGAC CACTTGCGCT AGCTCGACTT CCCGTAGCTG AAGTTCCTCC

1201 ACGGCAACAT CCTGGGGCAC AAGCTGGAGT ACAACTACAA CAGCCACAAC  
TGCCGTTGTA GGACCCCGTG TTCGACCTCA TGTTGATGTT GTCGGTGTGG

1251 GTCTATATCA TGGCCGACAA GCAGAAGAAC GGCATCAAGG TGAACCTCAA  
CAGATATAGT ACCGGCTGTT CGTCTTCTTG CCGTAGTTCC ACTTGAAGTT

1301 GATCCGCCAC AACATCGAGG ACGGCAGCGT GCAGCTCGCC GACCACTACC  
CTAGGCGGTG TTGTAGCTCC TGCCGTCGCA CGTCGAGCGG CTGGTGTATGG

1351 AGCAGAACAC CCCCATCGGC GACGGCCCCG TGCTGCTGCC CGACAACCAC  
TCGTCTTGTG GGGGTAGCCG CTGCCGGGGC ACGACGACGG GCTGTTGGTG

1401 TACCTGAGCA CCCAGTCCGC CCTGAGCAA GACCCCAACG AGAAGCGCGA  
ATGGAICTGT GGGTCAGGCG GGACTCGTTT CTGGGGTTGC TCTTCGCGCT

1451 TCACATGGTC CTGCTGGAGT TCGTGACCGC CGCCGGGATC ACTCTCGGCA  
AGTGTACCAG GACGACCTCA AGCACTGGCG GCGGCCCTAG TGAGAGCCGT

Myc tag  
XbaI | E Q K L I S E E D

1501 TGGACGAGCT GTACAAGTCT AGAGAGCAGA AACTCATCTC TGAAGAGGAT  
ACCTGCTCGA CATGTTTACA TCTCTCGTCT TTGAGTAGAG ACTTCTCCTA

L      ApaI

1551 CTGTAAAGGGC CCGGTACCTT AATTAATTAA GGTACCAGGT AAGTGTACCC  
GACATTTCCG GGCCATGGAA TTAATTAATT CCATGGTCCA TTCACATGGG

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AccIII	Acc113I	AccB7I	AclI	AcvI
AfeI	AflII	AgeI	AhdI	AhlI	Aor13HI	Aor51HI
AscI	AsiGI	AsiSI	Asp700I	AspEI	BaeI	BbrPI
BbsI	BbvCI	BcuI	BfrI	BlpI	BmcAI	BmeRI
BoxI	BpiI	Bpu1102I	BpuAI	BseAI	BsePI	BshTI
BsiWI	Bsp13I	Bsp68I	Bsp1720I	BspEI	BspQI	BspTI
BssHII	BssNAI	Bst98I	Bst1107I	BstAFI	BstEII	BstENI
BstPI	BstPAI	BstV2I	BstZ17I	BtuMI	CelII	CspAI
DriI	Eam1105I	Eco47III	Eco72I	Eco91I	EcoNI	EcoO65I
FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	Kpn2I	LguI
MauBI	MreI	MroI	MroXI	MspCI	MssI	NruI
PalAI	PauI	PciSI	PdmI	Pfl123II	PflMI	PI-PspI
PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI	PshAI
Psp5II	Psp1406I	PspCI	PspEI	PspLI	PspPPI	PspXI
PsrI	RgaI	RigI	SanDI	SapI	SbfI	ScaI
SdaI	SfaAI	SgfI	SgrAI	SgrDI	SgsI	SmiI
SpeI	Sse8387I	SwaI	Van91I	Vha464I	XagI	XcmI
XmnI	ZrmI					

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo中的单酶切位点包括:

AccI	GT`MK, AC	718	MluI	A`CGCG, T	2022
ApaI	G, GGCC`C	1561	MscI	TGG CCA	3216
ApaLI	G`TGCA, C	4738	NarI	GG`CG, CC	3134

BamHI	G`GATC,C	687	NdeI	CA`TA,TG	240
BcgI	,NN`(N) <sub>10</sub> CGANNNNNTGC(N) <sub>10</sub> ,NN`	891	NheI	G`CTAG,C	597
BclI	T`GATC,A	1793	NotI	GC`GGCC,GC	668
BglII	A`GATC,T	723	Paer7I	C`TCGA,G	729
BmgBI	CAC GTC	779	PciI	A`CATG,T	5052
BmtI	G,CTAG`C	601	PflFI	GACN`N,NGTC	3252
BsaI	GGTCTCN`NNNN,	4123	PluTI	G,GCGC`C	3137
BsaXI	,NNN`(N) <sub>9</sub> ACNNNNNCTCC(N) <sub>7</sub> ,NNN`	2186	PspOMI	G`GGCC,C	1557
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	769	PstI	C,TGCA`G	703
BspDI	AT`CG,AT	2974	PvuI	CG,AT`CG	1639
BsrDI	GCAATG,NN`	3367	RsrII	CG`GWC,CG	3650
BsrGI	T`GTAC,A	1510	SacI	G,AGCT`C	655
BstBI	TT`CG,AA	3816	SacII	CC,GC`GG	662
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	663	SalI	G`TCGA,C	717
ClaI	AT`CG,AT	2974	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	2909
CspCI	,NN`(N) <sub>11</sub> CAANNNNNGTGG(N) <sub>10</sub> ,NN`	382	SfoI	GGC GCC	3135
DraIII	CAC,NNN`GTG	2252	SmaI	CCC GGG	682
EarI	CTCTTCN`NNN,	1537	SnaBI	TAC GTA	346
Eco53kI	GAG CTC	653	SrfI	GCCC GGGC	682
EcoRI	G`AATT,C	705	StuI	AGG CCT	2955
EcoRV	GAT ATC	713	TspMI	C`CCGG,G	680
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	769	Tth111I	GACN`N,NGTC	3252
HindIII	A`AGCT,T	693	XbaI	T`CTAG,A	1518
HpaI	GTT AAC	1899	XhoI	C`TCGA,G	729
KasI	G`GCGC,C	3133	XmaI	C`CCGG,G	680
MfeI	C`AATT,G	1886			

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo质粒中对于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EGFP primer的序列如下：

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

EGFP primer (803-819): 5' CCTCGCCCTTGCTCACC 3'

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo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
D2673-1μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo	1μg
D2673-100μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo	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。
3. pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo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
ST081	G-418	1g
ST082	G-418	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
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
D2797	pCMV-N-Myc-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