

pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo

产品编号	产品名称	包装
D2812-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1μg
D2812-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo	100μg

产品简介:

- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo是碧云天研发的用于在哺乳动物细胞中表达N端同时带有Myc标签(Myc Tag, EQKLISEEDL)的目的蛋白、增强绿色荧光蛋白EGFP和Zeocin (博来霉素)抗性基因的表达质粒。
- 本质粒含有的CMV启动子可以高效启动目的基因的表达; 可以方便地使用抗Myc的抗体(AF5054/AF0033/AM933/AM926)来检测目的蛋白; 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。

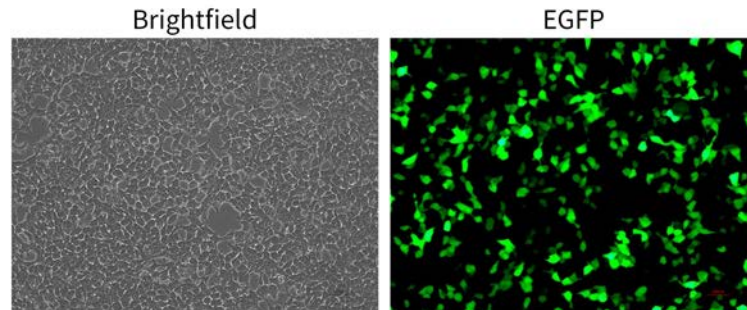
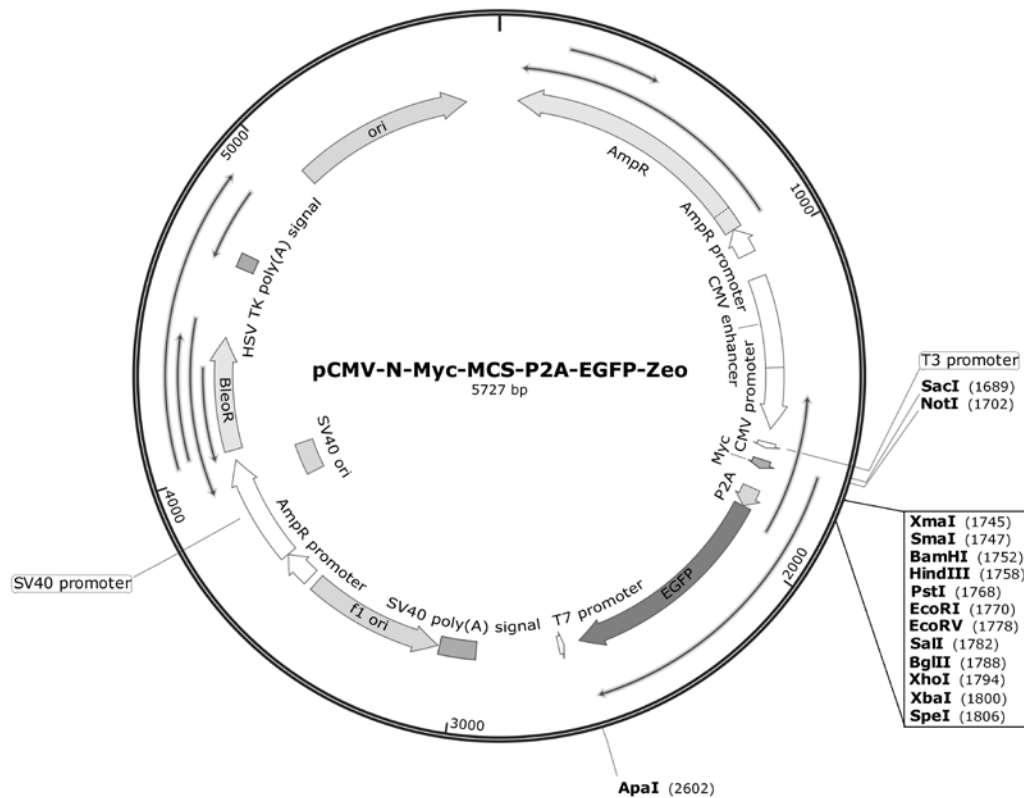


图1. 碧云天pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片, 右侧为荧光照片。本图仅供参考, 实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 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]。
- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)和Zeocin (博来霉素) 抗性。可利用其氨苄青霉素抗性, 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Zeocin (ST1450)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
AmpR		63-923
AmpR promoter		924-1016
CMV enhancer		1101-1404
CMV promoter		1405-1608
T3 promoter		1654-1672
Myc		1713-1742
P2A		1812-1877
EGFP		1878-2597
T7 promoter		2649-2667
SV40 poly(A) signal		2941-3062
f1 ori		3069-3524
AmpR promoter		3551-3655
SV40 promoter		3657-4014
SV40 ori		3865-4000
BleoR		4049-4423

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo质粒(5727bp)的图谱如下:



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

SacI

1651 CGAAATTAAC CCTCACTAAA GGAACAAAA GCTGGAGCTC CACCGCGGTG
GCTTTAATTG GGAGTGATTT CCCTTGTTTT CGACCTCGAG GTGGCGCCAC

Myc tag

NotI E Q K L I S E E D L XmaI

1701 GCGGCCGCCA TGGAGCAGAA ACTCATCTCT GAAGAGGATC TGAGCCCGGG
CGCCGCGGTT ACCTCGTCTT TGAGTAGAGA CTTCTCCTAG ACTCGGGCCC

PstI

BamHI HindIII EcoRI EcoRV SalI BglII XhoI XbaI

1751 CGGATCCAAG CTTCTGCAGG AATTCGATAT CGTCGACAGA TCTCTCGAGT
GCCTAGGTTC GAAGACGTCC TTAAGCTATA GCAGCTGTCT AGAGAGCTCA

P2A sequence

SpeI G S G A T N F S L L K Q A

1801 CTAGAACTAG TGAAGCGGA GCTACTAACT TCAGCCTGCT GAAGCAGGCT
GATCTTGATC ACCTTCGCCT CGATGATTGA AGTCGGACGA CTTCTGCCGA

EGFP sequence

1851 GGAGACGTGG AGGAGAACCC TGGACCTATG GTGAGCAAGG GCGAGGAGCT
CCTCTGCACC TCCTCTTGGG ACCTGGATAC CACTCGTTCC CGCTCCTCGA

1901 GTTCACCGGG GTGGTGCCCA TCCTGGTCGA GCTGGACGGC GACGTAAACG
CAAGTGGCC CACCACGGGT AGGACCAGCT CGACCTGCCG CTGCATTTGC

1951 GCCACAAGTT CAGCGTGTCC GGCGAGGGCG AGGGCGATGC CACCTACGGC
CGTGTTCAA GTCGCACAGG CCGCTCCCGC TCCCGCTACG GTGGATGCCG

2001 AAGCTGACCC TGAAGTTCAT CTGCACCACC GGCAAGCTGC CCGTGCCCTG
TTCGACTGGG ACTTCAAGTA GACGTGGTGG CCGTTCGACG GGCACGGGAC

2051 GCCCACCTC GTGACCACCC TGACCTACGG CGTGCAGTGC TTCAGCCGCT
CGGGTGGGAG CACTGGTGGG ACTGGATGCC GCACGTCACG AAGTCGGCGA

2101 ACCCCGACCA CATGAAGCAG CACGACTTCT TCAAGTCCGC CATGCCCGAA
TGGGGCTGGT GACTTTCGTC GTGCTGAAGA AGTTCAGGCG GTACGGGCTT

2151 GGCTACGTCC AGGAGCGCAC CATCTTCTTC AAGGACGACG GCAACTACAA
CCGATGCAGG TCCTCGCGTG GTAGAAGAAG TTCCTGCTGC CGTTGATGTT

2201 GACCCGCGCC GAGGTGAAGT TCGAGGGCGA CACCCTGGTG AACCGCATCG
CTGGGCGCGG CTCCACTTCA AGCTCCCGCT GTGGGACCAC TTGGCGTAGC

2251 AGCTGAAGGG CATCGACTTC AAGGAGGACG GCAACATCCT GGGGCACAAG
TCGACTTCCC GTAGCTGAAG TTCCTCCTGC CGTTGTAGGA CCCCCTGTTT

2301 CTGGAGTACA ACTACAACAG CCACAACGTC TATATCATGG CCGACAAGCA
GACCTCATGT TGATGTTGTC GGTGTTGCAG ATATAGTACC GGCTGTTCTGT

2351 GAAGAACGGC ATCAAGGTGA ACTTCAAGAT CCGCCACAAC ATCGAGGACG
CTTCTTGCCG TAGTTCCACT TGAAGTTCTA GGCGGTGTTG TAGCTCCTGC

2401 GCAGCGTGCA GCTCGCCGAC CACTACCAGC AGAACACCCC CATCGGCGAC
CGTCGCACGT CGAGCGGCTG GTGATGGTCG TCTTGTGGGG GTAGCCGCTG

2451 GGCCCCGTGC TGCTGCCCCG CAACCACTAC CTGAGCACCC AGTCCGCCCT
CCGGGCGACG ACGACGGGCT GTTGGTGTATG GACTCGTGGG TCAGGCGGGA

2501 GAGCAAAGAC CCCAACGAGA AGCGCGATCA CATGGTCCTG CTGGAGTTCG
CTCGTTTCTG GGGTTGCTCT TCGCGTAGT GTACCAGGAC GACCTCAAGC

ApaI

2551 TGACCGCCGC CGGGATCACT CTCGGCATGG ACGAGCTGTA CAAGTAAGGG
ACTGGCGGCG GCCCTAGTGA GAGCCGTACC TGCTCGACAT GTTCATTCCC

2601 CCCGTACCT TAATTAATTA AGGTACCAGG TAAGTGATACC CAATTGCCC
GGCCATGGA ATTAATTAAT TCCATGGTCC ATTCACATGG GTTAAGCGGG

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

AarI	AbsI	AccIII	AccB7I	AcvI	AfeI	AflII
AgeI	Aor13HI	Aor51HI	AscI	AsiGI	AsiSI	AspI
BaeI	BbeI	BbrPI	BbsI	BbvCI	BfrI	BlpI
BoxI	BpiI	Bpu1102I	BpuAI	BseAI	BshTI	BsiWI
Bsp13I	Bsp68I	Bsp1720I	BspEI	BspQI	BspTI	BssNAI
Bst98I	Bst1107I	BstAFI	BstEII	BstENI	BstPI	BstPAI
BstV2I	BstZ17I	BtuMI	CelII	CpoI	CspI	CspAI
DinI	Eco47III	Eco72I	Eco91I	EcoNI	EcoO65I	EgeI
EheI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KasI	Kpn2I
LguI	Mly113I	MreI	MroI	MspCI	MssI	NarI
NruI	PalAI	PciSI	Pfl123II	PflFI	PflMI	PI-PspI
PI-SceI	PinAI	PluTI	PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI
PshAI	Psp5II	PspCI	PspEI	PspLI	PspPPI	PspXI
PsrI	PsyI	RgaI	RsrII	Rsr2I	SanDI	SapI
SbfI	SdaI	SfaAI	SfoI	SgfI	SgrDI	SgsI
SmiI	Sse8387I	SspDI	SwaI	Tth111I	Van91I	Vha464I
XagI	XcmI					

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo中的单酶切位点包括:

AccI	GT`MK, AC	1783	MscI	TGG CCA	4052
AhdI	GACNN, N`NNGTC	136	NdeI	CA`TA, TG	1274
ApaI	G, GGCC`C	2602	NheI	G`CTAG, C	1631

BamHI	G`GATC,C	1752	NotI	GC`GGCC,GC	1702
BclI	T`GATC,A	2834	Paer7I	C`TCGA,G	1794
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4475	PciI	A`CATG,T	5675
BglII	A`GATC,T	1788	PspOMI	G`GGCC,C	2598
BmtI	G,CTAG`C	1635	PstI	C,TGCA`G	1768
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	1846	PvuII	CAG CTG	3675
BspDI	AT`CG,AT	4017	SacI	G,AGCT`C	1689
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4475	SacII	CC,GC`GG	1696
BsrGI	T`GTAC,A	2587	SalI	G`TCGA,C	1782
BssHII	G`CGCG,C	4085	ScaI	AGT ACT	616
BstBI	TT`CG,AA	4439	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3952
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1697	SgrAI	CR`CCGG,YG	4163
ClaI	AT`CG,AT	4017	SmaI	CCC GGG	1747
CspCI	,NN`(N) ₁₁ CAANNNNNGTGG(N) ₁₀ ,NN`	1416	SnaBI	TAC GTA	1380
Eco53kI	GAG CTC	1687	SpeI	A`CTAG,T	1806
EcoRI	G`AATT,C	1770	SrfI	GCCC GGGC	1747
EcoRV	GAT ATC	1778	StuI	AGG CCT	3998
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	1846	TspMI	C`CCGG,G	1745
FseI	GG,CCGG`CC	4325	XbaI	T`CTAG,A	1800
HindIII	A`AGCT,T	1758	XhoI	C`TCGA,G	1794
HpaI	GTT AAC	2940	XmaI	C`CCGG,G	1745
MfeI	C`AATT,G	2927	XmnI	GAANN NNTTC	735
MluI	A`CGCG,T	3063			

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo质粒中对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 (1654-1672): 5' AATTAACCCTCACTAAAGG 3'

EGFP primer (1880-1896): 5' CCTCGCCCTTGCTCACC 3'

➤ pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo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
D2812-1μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1μg
D2812-100μg	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo	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-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo质粒在其多克隆位点适当酶切后可以插入待表达的基因，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
ST1450-20mg	Zeocin (博莱霉素)	20mg

ST1450-100mg	Zeocin (博莱霉素)	100mg
ST1450-0.25ml	Zeocin (博莱霉素)	20mg/ml×0.25ml
ST1450-1ml	Zeocin (博莱霉素)	20mg/ml×1ml
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
D2673	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-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
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 2022.03.21