

## pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla

产品编号	产品名称	包装
D2814-1μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla	1μg
D2814-100μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla	100μg

### 产品简介:

- pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla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和灭瘟素S (Blasticidin S)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,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。

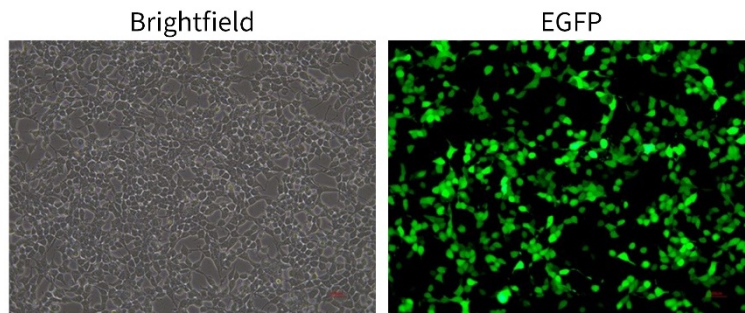
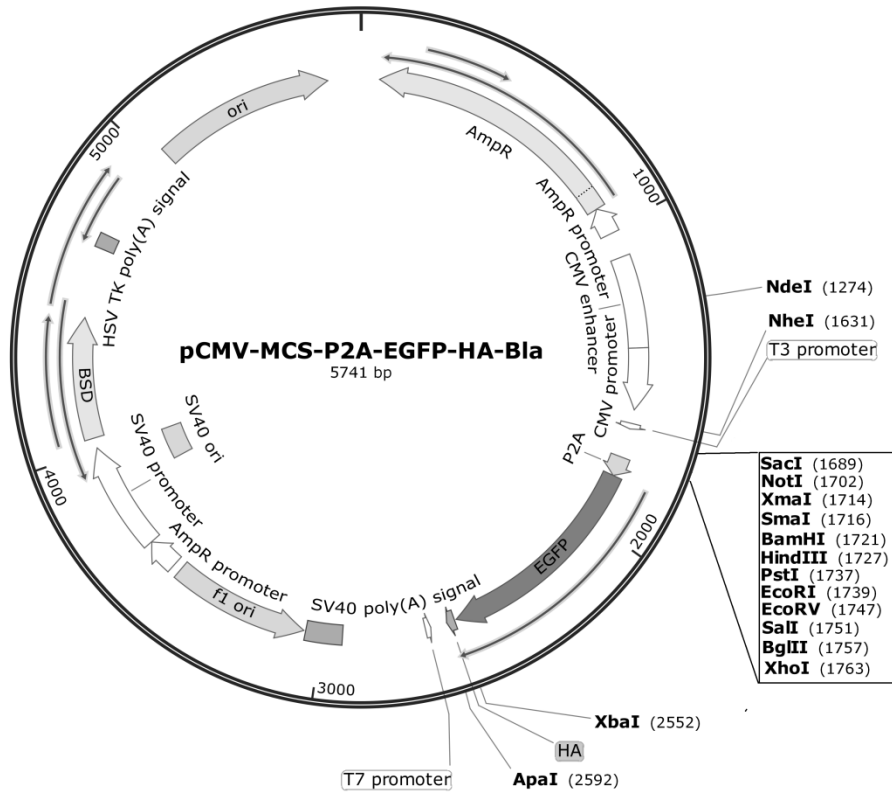


图1. 碧云天pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片,右侧为荧光照片。本图仅供参考,实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 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)和灭瘟素S (Blasticidin S)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Blasticidin S (ST018)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla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
P2A	1769-1834
EGFP	1835-2551
HA	2558-2584
T7 promoter	2639-2657
SV40 poly(A) signal	2931-3052
f1 ori	3059-3514
AmpR promoter	3541-3645
SV40 promoter	3647-4004
SV40 ori	3855-3990
BSD	4039-4437
HSV TK poly(A) signal	4669-4716

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla质粒(5741bp)的图谱如下:



➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla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

XmaI PstI

NotI SmaI BamHI HindIII EcoRI EcoRV

1701 GCGCCGCTC TAGCCCGGC GGATCCAAGC TTCTGCAGGA ATTCGATATC  
CGCCGGCGAG ATCGGGCCCG C TAGGTTTCG AAGACGTCCT TAAGCTATAG

P2A sequence

SalI BglII XhoI G S G A T N F S L L K

1751 GTCGACAGAT CTCTCGAGGG AAGCGGAGCT ACTAAGTCA GCCTGCTGAA  
CAGCTGTCTA GAGAGCTCCC TTCGCCTCGA TGATTGAAGT CGGACGACTT

EGFP sequence

1801 Q A G D V E E N P G P G C A G G C T G G A G A C C C T G G A C C T A T G G T G A G C A A G G G C G  
C G T C C G A C C T C T G C A C C T C C T C T T G G G A C C T G G A T A C C A C T C G T T C C C G C

1851 A G G A G C T G T T C A C C G G G G T G T G C C C A T C C T G G T C G A G C T G G A C G G C G A C  
T C C T C G A C A A G T G G C C C C A C C A C G G T A G G A C C A G C T C G A C C T G C C G C T G

1901 G T A A A C G G C C A C A A G T T C A G C G T G T C C G G C G A G G G C G A G G C G A T G C C A C  
C A T T T G C C G G T G T T C A A G T C G C A C A G G C C G C T C C C G C T C C G C T A C G G T G

1951 C T A C G G C A A G C T G A C C C T G A A G T T C A T C T G C A C C C G G C A A G C T G C C C G  
G A T G C C G T T C G A C T G G G A C T T C A A G T A G A C G T G G T G G C C G T T C G A C G G G C

2001 T G C C C T G G C C A C C C T C G T G A C C A C C T G A C C T A C G G C G T G C A G T G C T T C  
A C G G G A C C G G G T G G G A G C A C T G G T G G G A C T G G A T G C C G C A C G T C A C G A A G

2051 A G C C G C T A C C C C G A C A T G A A G C A G C A C G A C T T C T T C A A G T C C G C C A T

TCGGCGATGG GGCTGGTGTA CTTCGTCGTG CTGAAGAAGT TCAGGCGGTA

2101 GCCCGAAGGC TACGTCCAGG AGCGCACCAT CTTCTTCAAG GACGACGGCA  
CGGGCTTCCG ATGCAGGTCC TCGCGTGTA GAAGAAGTTC CTGCTGCCGT

2151 ACTACAAGAC CCGCGCCGAG GTGAAGTTCG AGGGCGACAC CCTGGTGAAC  
TGATGTTCTG GGC GCGGCTC CACTTCAAGC TCCCGCTGTG GGACCACTTG

2201 CGCATCGAGC TGAAGGGCAT CGACTTCAAG GAGGACGGCA ACATCCTGGG  
GCGTAGCTCG ACTTCCCGTA GCTGAAGTTC CTCCTGCCGT TGTAGGACCC

2251 GCACAAGCTG GAGTACAAC ACAACAGCCA CAACGTCTAT ATCATGGCCG  
CGTGTTCGAC CTCATGTTGA TGTTGTCGGT GTTGACAGATA TAGTACCGGC

2301 ACAAGCAGAA GAACGGCATC AAGGTGAACT TCAAGATCCG CCACAACATC  
TGTTCTGCTT CTTGCCGTAG TTCCAATTGA AGTTCTAGGC GGTGTTGTAG

2351 GAGGACGGCA GCGTGCAGCT CGCCGACCAC TACCAGCAGA ACACCCCAT  
CTCCTGCCGT CGCACGTCGA GCGGCTGGTG ATGGTCGTCT TGTGGGGTA

2401 CGGCGACGGC CCCGTGCTGC TGCCCGACAA CCACTACCTG AGCACCAGT  
GCCGCTGCCG GGGCAGCAGC ACGGGCTGTT GGTGATGGAC TCGTGGGTCA

2451 CCGCCCTGAG CAAAGACCCC AACGAGAAGC GCGATCACAT GGTCTGCTG  
GGCGGACTC GTTTCTGGGG TTGCTCTTCG CGCTAGTGTA CCAGGACGAC

2501 GAGTTCGTGA CCGCCGCCGG GATCACTCTC GGCATGGACG AGCTGTACAA  
CTCAAGCACT GCGCGCGGCC CTAGTGAGAG CCGTACCTGC TCGACATGTT

HA tag

XbaI | P Y D V P D Y A ApaI

2551 GTCTAGATAC CCATACGATG TTCCAGATTA CGCTAAAGGG CCCGGTACCT  
CAGATCTATG GGTATGCTAC AAGGTCTAAT GCGAATTCCC GGGCCATGGA

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AccIII	AccB7I	AcvI	AfeI	AgeI
AhlI	Aor13HI	Aor51HI	AscI	AsiGI	AsiSI	AspI
BaeI	BbeI	BbrPI	BbvCI	BcuI	BoxI	BseAI
BsePI	BshTI	BsiWI	Bsp13I	BspEI	BspQI	BssHII
BssNAI	Bst1107I	BstEII	BstENI	BstPI	BstPAI	BstZ17I
CpoI	CspI	CspAI	DinI	Eco47III	Eco72I	Eco91I
EcoNI	EcoO65I	EgeI	EheI	FseI	FspAI	I-CeuI
I-PpoI	I-SceI	KasI	Kpn2I	LguI	MauBI	Mly113I
MreI	MroI	MssI	NarI	PalAI	PauI	PciSI
Pfl23II	PflFI	PflMI	PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PluTI
PmaCI	PmeI	PmlI	PshAI	PspCI	PspEI	PspLI
PspXI	PsrI	PsyI	RgaI	RigI	RsrII	Rsr2I
SanDI	SapI	SbfI	SdaI	SfaAI	SfoI	SgfI
SgrAI	SgrDI	SgsI	SmiI	SpeI	Sse8387I	SspDI
SwaI	Tth111I	Van91I	XagI	XcmI		

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla中的单酶切位点包括:

AccI	GT`MK, AC	1752	HpaI	GTT AAC	2930
AhdI	GACNN, N`NNGTC	2583	MfeI	C`AATT, G	2917
AflII	C`TTAA, G	136	MluI	A`CGCG, T	3053
ApaI	G, GGCC`C	2592	MscI	TGG CCA	4042
BamHI	G`GATC, C	1721	NdeI	CA`TA, TG	1274
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	4124	NheI	G`CTAG, C	1631
BclI	T`GATC, A	2824	NotI	GC`GGCC, GC	1702
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4489	NruI	TCG CGA	4270
BglII	A`GATC, T	1757	Paer7I	C`TCGA, G	1763
BlpI	GC`TNA, GC	4434	PciI	A`CATG, T	5689
BmgBI	CAC GTC	1813	PpuMI	RG`GWC, CY	4198

BmtI	G,CTAG`C	1635	PspOMI	G`GGCC,C	2588
BsaXI	,NNN`(N) <sub>9</sub> ACNNNNNCTCCNNNNNNN,NNN`	3217	PstI	C,TGCA`G	1737
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	1803	SacI	G,AGCT`C	1689
BspDI	AT`CG,AT	4007	SacII	CC,GC`GG	1696
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4489	SalI	G`TCGA,C	1751
BsrGI	T`GTAC,A	2544	ScaI	AGT ACT	616
BstBI	TT`CG,AA	4453	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3942
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1697	SmaI	CCC GGG	1716
ClaI	AT`CG,AT	4007	SnaBI	TAC GTA	1380
DraIII	CAC,NNN`GTG	3283	SrfI	GCCC GGGC	1716
EarI	CTCTCN`NNN,	931	StuI	AGG CCT	3985
Eco53kI	GAG CTC	1687	TspMI	C`CCGG,G	1714
EcoRI	G`AATT,C	1739	XbaI	T`CTAG,A	2552
EcoRV	GAT ATC	1747	XhoI	C`TCGA,G	1763
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	1803	XmaI	C`CCGG,G	1714
HindIII	A`AGCT,T	1727	XmnI	GAANN NNTTC	735

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla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 (1837-1853): 5' CCTCGCCCTTGCTCACC 3'

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla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
D2814-1μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla	1μg
D2814-100μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla	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。
- pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla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：

- Kim JH, Lee SR, Li LH, Park HJ, Park JH, et al. PLoS One. 2011. 6(4):e18556.
- 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
ST018-10mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg
ST018-1ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×1ml
ST018-50mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	50mg
ST018-5ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×5ml
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
D2812	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1µg/100µg
D2813	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Zeo	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