



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线：400-168-3301或800-8283301
 订货e-mail：order@beyotime.com
 技术咨询：info@beyotime.com
 网址：http://www.beyotime.com

pCMV-GFP-LC3B

产品编号	产品名称	包装
D2815-1μg	pCMV-GFP-LC3B	1μg
D2815-100μg	pCMV-GFP-LC3B	100μg

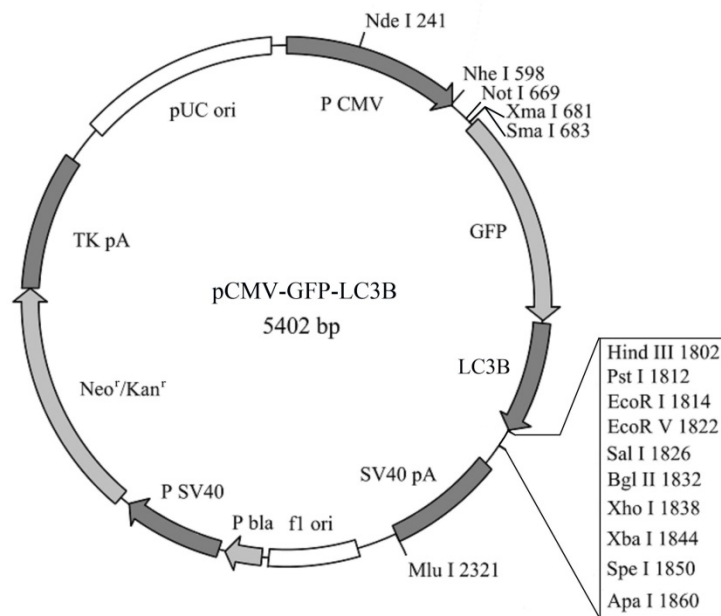
产品简介：

- pCMV-GFP-LC3B是碧云天自行研发的在哺乳动物细胞中表达GFP标签的人源LC3B 融合蛋白的质粒。该质粒含有CMV启动子，为卡那霉素抗性，转染细胞后能够在靶细胞中高效表达绿色荧光蛋白GFP标签的LC3B的融合蛋白，呈现明亮的绿色荧光，可以用于细胞自噬(autophagy)的研究。本质粒转染细胞后，可以使用G418筛选稳定表达融合蛋白的细胞株。
- LC3是酵母自噬关键蛋白ATG8在哺乳动物中的同源蛋白。LC3最初被分析鉴定为microtubule-associated protein 1 light chain 3 (MAP1LC3)。LC3蛋白家族包括LC3A、B、C和GABARAP等亚家族，其中对于LC3B的研究最为广泛。到目前为止，LC3B被认为是细胞自噬信号通路最为关键的标志性蛋白。LC3B是一个具有125个氨基酸残基的蛋白，在蛋白合成后，被Atg4所酶切而失去了C端的22个氨基酸蛋白，从而暴露出C端的甘氨酸，人们把它命名为胞质形式的LC3B I。在细胞自噬的过程中，其C端暴露的甘氨酸经过一个类似泛素化的过程，以ATG7为E1样激活酶(E1-like activating enzyme)，以ATG3为E2样连接酶(E2-like conjugation enzyme)，以Atg12-Atg5-Atg16复合物为E3样连接酶(E3-like ligase)，在C端甘氨酸上共价连接上磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)而成为LC3B-PE即LC3B II。与胞质定位的LC3B I不同，LC3B II定位于自噬体(autophagosome)的内膜和外膜上。在自噬体与溶酶体融合后，自噬体外膜上的LC3B II被Atg4所酶切，而自噬体内膜上的LC3B II则被溶酶体内的蛋白酶所降解。尽管LC3B II比LC3B I的分子量要大，但由于其极强的疏水性，在SDS-PAGE电泳时，LC3B II比LC3B I迁移得更快，其表现分子量分别为14kD和16kD。在用pCMV-GFP-LC3B转染细胞后，在非自噬的情况下，荧光显微镜下GFP-LC3B以弥散的形式存在于细胞质中；而在自噬的情况下，荧光显微镜下GFP-LC3B则聚集在自噬体膜上，以斑点的形式表现出来(LC3B dots or punctae)。
- 自噬(Autophagy)是一种在进化上高度保守的通过溶酶体吞噬并降解部分自身组分的细胞内分解代谢途径。自噬与多种生理功能有关，在饥饿等不利的环境条件下，细胞通过自噬降解多余或异常的细胞内组分，为细胞的生存提供能量及原材料，促进生物体的生长发育、细胞分化及对环境变化产生应答。自噬异常与多种病理过程如肿瘤、神经退行性疾病、代谢疾病、病原体感染等都有密切关系。由于细胞自噬在生理和病理过程中都有重要作用，自噬已经成为细胞生物学领域的一个新的研究热点。

- pCMV-GFP-LC3B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
GFP	698-1411
LC3B	1424-1801
T7 promoter and T7 primer binding site	1904-1925
SV40 polyA signal	1937-2320
f1 origin of ss-DNA replication	2458-2762
bla promoter	2787-2911
SV40 promoter	2931-3269
Neomycin/kanamycin resistance ORF	3304-4095
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal	4096-4554
pUC origin	4683-5350

- pCMV-GFP-LC3B质粒(5402bp)的图谱如下：



➤ pCMV-GFP-LC3B表达基因的详细图谱如下：

	Not I	Sma I	GFP
651	GAGCTCCACC CTCGAGGTGG	GCGGTGGCGG CGCCACCGCC	CCGCTCTAGC GGCGAGATCG
701	AGCAAGGGAG TCGTTCCCTC	AAGAACTCTT TTCTTGAGAA	TACTGGTGTT ATGACCACAA
751	GGATGGTGAT CCTACCACCTA	GTGAATGGCC CACTTACCGG	ACAAATTCTC TGTTTAAGAG
801	GAGATGCAAC CTCTACGTTG	TTATGGAAAG AATACCTTTC	CTGACTCTGA GACTGAGACT
851	AAGCTGCCAG TTCGACGGTC	TGCCTTGGCC ACGGAACCGG	AACTCTGGTG TTGAGACCAC
901	TCAATGTTTC AGTTACAAAG	AGCAGGTACC TCGTCCATGG	CTGACCACAT GACTGGTGTA
951	AATCTGCAAT TTAGACGTTA	GCCAGAAGGT CGGTCTTCCA	TATGTTCAGG ATACAAGTCC
1001	GATGATGGAA CTACTACCTT	ATTATAAGAC TAATATTTCTG	AAGGGCAGAA TTCCCGTCTT
1051	ACTGGTTAAC TGACCAATTG	AGAATTGAGC TCTTAACTCG	TGAAAGGCAT ACTTTCCGTA
1101	ACATTCTGGG TGTAAGACCC	TCACAAGCTG AGTGTTCGAC	GAGTACAAC CTCATGTTGA
1151	ATTATGGCAG TAATACCGTC	ATAAGCAGAG TATTCGTCTC	GAATGGAATT CTTACCTTAA
1201	ACACAACATT TGTGTTGTAA	GAGGATGGAT CTCCTACCTA	CTGTCCAAC GACAGGTTGA
1251	ACACCCCTAT TGTGGGGATA	TGGTGATGGC ACCACTACCG	CCAGTCTCC GGTCAAGAGG
1301	AGCACTCAAT TCGTGAGTTA	CTGCTCTGTC GACGAGACAG	CAAAGACCCT GTTTCTGGGA
1351	GGTCCTCCTG CCAGGAGGAC	GAGTTTGTGA CTCAAACACT	CAGCAGCAGG GTCGTCGTCC

LC3B

1401	AGCTGTACAA	GGGAGGTGGA	TCCATGCCGT	CGGAGAAGAC	CTTCAAGCAG
	TCGACATGTT	CCCTCCACCT	AGGTACGGCA	GCCTCTTCTG	GAAGTTCGTC
1451	CGCCGCACCT	TCGAACAAAG	AGTAGAAGAT	GTCCGACTTA	TTCGAGAGCA
	GCGGCGTGGG	AGCTTGTTTC	TCATCTTCTA	CAGGCTGAAT	AAGCTCTCGT
1501	GCATCCAACC	AAAATCCCGG	TGATAATAGA	ACGATACAAG	GGTGAGAAGC
	CGTAGGTTGG	TTTTAGGGCC	ACTATTATCT	TGCTATGTTC	CCACTCTTCG
1551	AGCTTCCTGT	TCTGGATAAA	ACAAAGTTCC	TTGTACCTGA	CCATGTCAAC
	TCGAAGGACA	AGACCTATTT	TGTTTCAAGG	AACATGGACT	GGTACAGTTG
1601	ATGAGTGAGC	TCATCAAGAT	AATTAGAAGG	CGCTTACAGC	TCAATGCTAA
	TACTCACTCG	AGTAGTTCTA	TTAATCTTCC	GCGAATGTCG	AGTTACGATT
1651	TCAGGCCTTC	TTCCTGTTGG	TGAACGGACA	CAGCATGGTC	AGCGTCTCCA
	AGTCCGGAAG	AAGGACAACC	ACTTGCCTGT	GTCGTACCAG	TCGCAGAGGT
1701	CACCAATCTC	AGAGGTGTAT	GAGAGTGAGA	AAGATGAAGA	TGGATTCTCG
	TGGGTTAGAG	TCTCCACATA	CTCTCACTCT	TTCTACTTCT	ACCTAAGGAC
1751	TACATGGTCT	ATGCCTCCCA	GGAGACGTTT	GGGATGAAAT	TGTCAGTGTA
	ATGTACCAGA	TACGGAGGGT	CCTCTGCAAG	CCCTACTTTA	ACAGTCACAT

PstI

HindIII EcoRI EcoRV SalI BglII XhoI XbaI SpeI

1801	AAGCTTCTGC	AGGAATTCGA	TATCGTCGAC	AGATCTCTCG	AGTCTAGAAC
	TTCGAAGACG	TCCTTAAGCT	ATAGCAGCTG	TCTAGAGAGC	TCAGATCTTG

ApaI

1851	TAGTGGGCC	GGTACCTTAA	TTAATTAAGG	TACCAGGTAA	GTGTACCCAA
	ATCACCCGGG	CCATGGAATT	AATTAATTCC	ATGGTCCATT	CACATGGGTT

➤ pCMV-GFP-LC3B中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pCMV-GFP-LC3B)包括:

AclI	AfeI	AflII	AgeI	AhdI	AscI	AsiSI
BbvCI	BcgI	BlpI	BmgBI	Bpu10I	BsgI	BsiWI
BspEI	BspQI	BssHII	BstZ17I	EarI	EcoNI	FseI
NruI	PflMI	PmeI	PmlI	PpuMI	PshAI	PspXI
SapI	SbfI	ScaI	SgrAI	SwaI	XcmI	

➤ pCMV-GFP-LC3B中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pCMV-GFP-LC3B once)包括:

NdeI	CA`TA, TG	240	XhoI	C`TCGA, G	1837
SnaBI	TAC GTA	346	XbaI	T`CTAG, A	1843
NheI	G`CTAG, C	597	SpeI	A`CTAG, T	1849
BmtI	G, CTAG`C	597	PspOMI	G`GGCC, C	1855
SacII	CC, GC`GG	660	ApaI	G, GGCC`C	1855
AleI	CACNN NNGTG	661	PvuI	CG, AT`CG	1935
NotI	GC`GGCC, GC	668	BclI	T`GATC, A	2091
TspMI	C`CCGG, G	680	MfeI	C`AATT, G	2184
XmaI	C`CCGG, G	680	BtsI	GCAGTG, NN`	2271
SmaI	CCC GGG	682	MluI	A`CGCG, T	2320
SrfI	GCCC GGGC	682	BsaXI	, NNN` (N) ₉ AC(N) ₅ CTCC(N) ₇ , NNN`	2481
BstEII	G`GTNAC, C	877	DraIII	CAC, NNN`GTG	2547
XmnI	GAANN NNTTC	1439	SfiI	GGCCN, NNN`NGGCC	3204
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	1442	ClaI	AT`CG, AT	3272
HindIII	A`AGCT, T	1801	BspDI	AT`CG, AT	3272
PstI	C, TGCA`G	1807	KasI	G`GCGC, C	3431
EcoRI	G`AATT, C	1813	PluTI	G, GCGC`C	3431
EcoRV	GAT ATC	1821	NarI	GG`CG, CC	3432
SalI	G`TCGA, C	1825	SfoI	GGC GCC	3433
AccI	GT`MK, AC	1826	RsrII	CG`GWC, CG	3948
BglII	A`GATC, T	1831	ApaLI	G`TGCA, C	5036
PaeR7I	C`TCGA, G	1837	PciI	A`CATG, T	5350

➤ pCMV-GFP-LC3B质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

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

T7 primer (1904-1925): 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3'

➤ pCMV-GFP-LC3B的全序列信息请参考碧云天网站上该质粒的信息。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2815-1μg	pCMV-GFP-LC3B	1μg
D2815-100μg	pCMV-GFP-LC3B	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。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D2602-1μg	pCMV-Blank	1μg
D2602-100μg	pCMV-Blank	100μg
D2621-1μg	pCMV-C-BFP (蓝色荧光蛋白)	1μg
D2621-100μg	pCMV-C-BFP (蓝色荧光蛋白)	100μg
D2623-1μg	pCMV-C-CFP (青色荧光蛋白)	1μg
D2623-100μg	pCMV-C-CFP (青色荧光蛋白)	100μg
D2624-1μg	pCMV-C-DsRed (红色荧光蛋白)	1μg
D2624-100μg	pCMV-C-DsRed (红色荧光蛋白)	100μg
D2626-1μg	pCMV-C-EGFP (绿色荧光蛋白)	1μg
D2626-100μg	pCMV-C-EGFP (绿色荧光蛋白)	100μg
D2628-1μg	pCMV-C-mCherry (红色荧光蛋白)	1μg
D2628-100μg	pCMV-C-mCherry (红色荧光蛋白)	100μg
D2630-1μg	pCMV-C-YFP (黄色荧光蛋白)	1μg
D2630-100μg	pCMV-C-YFP (黄色荧光蛋白)	100μg
D2632-1μg	pCMV-C-Flag	1μg
D2632-100μg	pCMV-C-Flag	100μg
D2639-1μg	pCMV-C-HA	1μg
D2639-100μg	pCMV-C-HA	100μg
D2650-1μg	pCMV-C-His	1μg
D2650-100μg	pCMV-C-His	100μg
D2672-1μg	pCMV-C-Myc	1μg
D2672-100μg	pCMV-C-Myc	100μg
D2701-1μg	pCMV-N-BFP (蓝色荧光蛋白)	1μg
D2701-100μg	pCMV-N-BFP (蓝色荧光蛋白)	100μg
D2703-1μg	pCMV-N-CFP (青色荧光蛋白)	1μg
D2703-100μg	pCMV-N-CFP (青色荧光蛋白)	100μg
D2705-1μg	pCMV-N-DsRed (红色荧光蛋白)	1μg
D2705-100μg	pCMV-N-DsRed (红色荧光蛋白)	100μg
D2707-1μg	pCMV-N-EGFP (绿色荧光蛋白)	1μg
D2707-100μg	pCMV-N-EGFP (绿色荧光蛋白)	100μg
D2711-1μg	pCMV-N-mCherry (红色荧光蛋白)	1μg
D2711-100μg	pCMV-N-mCherry (红色荧光蛋白)	100μg
D2716-1μg	pCMV-N-YFP (黄色荧光蛋白)	1μg
D2716-100μg	pCMV-N-YFP (黄色荧光蛋白)	100μg

D2722-1μg	pCMV-N-Flag	1μg
D2722-100μg	pCMV-N-Flag	100μg
D2733-1μg	pCMV-N-HA	1μg
D2733-100μg	pCMV-N-HA	100μg
D2737-1μg	pCMV-N-His	1μg
D2737-100μg	pCMV-N-His	100μg
D2756-1μg	pCMV-N-Myc	1μg
D2756-100μg	pCMV-N-Myc	100μg
D2815-1μg	pCMV-GFP-LC3B	1μg
D2815-100μg	pCMV-GFP-LC3B	100μg
D2816-1μg	pCMV-mCherry-GFP-LC3B	1μg
D2816-100μg	pCMV-mCherry-GFP-LC3B	100μg
D2817-1μg	pCMV-GFP-p62	1μg
D2817-100μg	pCMV-GFP-p62	100μg
D2818-1μg	pCMV-mCherry-p62	1μg
D2818-100μg	pCMV-mCherry-p62	100μg

Version 2019.07.21