



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-mCherry-GFP-LC3B

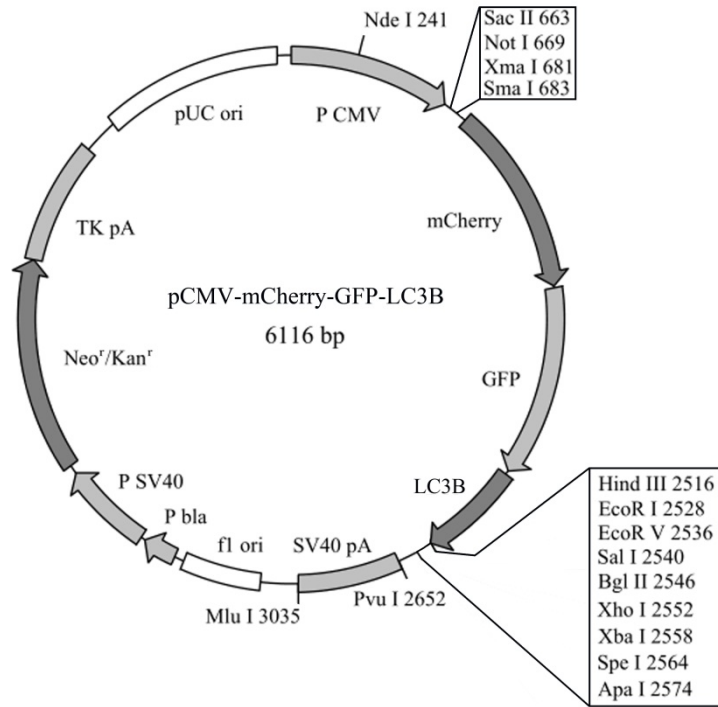
产品编号	产品名称	包装
D2816-1μg	pCMV-mCherry-GFP-LC3B	1μg
D2816-100μg	pCMV-mCherry-GFP-LC3B	100μg

产品简介：

- pCMV-mCherry-GFP-LC3B是碧云天研发的在哺乳动物细胞中表达红色mCherry和绿色GFP双标签的人源LC3B融合蛋白的质粒。该质粒含有CMV启动子，为卡那霉素抗性，转染后能够在靶细胞中高效表达带有红色荧光蛋白mCherry和绿色荧光蛋白GFP双重标签的LC3B的融合蛋白，呈现明亮的红色和绿色荧光，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，其表观分子量分别为14kD和16kD。
- 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。
- 自噬小体在与溶酶体融合过程中，溶酶体内的酸性环境会导致GFP荧光淬灭，这为追踪GFP-LC3B的细胞定位增加了难度。mCherry是一种来自于蘑菇珊瑚(mushroom coral)的单体红色荧光蛋白，当其与GFP进行LC3B的共同标记时，在GFP被溶酶体酸性环境所淬灭的情况下，可以发出红色荧光的mCherry因为其卓越的稳定性而被保留。因此，通过融合表达mCherry-GFP-LC3B蛋白，可以非常有效地追踪自噬过程。
- pCMV-mCherry-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
mCherry		698-1405
GFP		1412-2125
LC3B		2138-2515
T7 promoter and T7 primer binding site		2618-2639
SV40 polyA signal		2651-3034
f1 origin of ss-DNA replication		3172-3467
bla promoter		3501-3625
SV40 promoter		3465-3983
Neomycin/kanamycin resistance ORF		4018-4809
HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal		4810-5268
pUC origin		5397-6064

- pCMV-mCherry-GFP-LC3B质粒(6116bp)的图谱如下：



➤ pCMV-mCherry-GFP-LC3B表达基因的详细图谱如下:

	NotI	SmaI	mCherry
651	GAGCTCCACC	GCGGTGGCGG	CCGCTCTAGC CCGGGCGGAT CCAAGCTATG
	CTCGAGGTGG	CGCCACCGCC	GGCGAGATCG GGCCCGCTA GGTTTCGATAC
701	GTAAGCAAGG	GCGAGGAGGA	TAACATGGCC ATCATCAAGG AGTTCATGCG
	CATTCGTTC	CGTCCTCTCT	ATTGTACCGG TAGTAGTTCC TCAAGTACGC
751	CTTCAAGGTG	CACATGGAGG	GCTCCGTGAA CGGCCACGAG TTCGAGATCG
	GAAGTTCCAC	GTGTACCTCC	CGAGGCACTT GCCGGTGCTC AAGCTCTAGC
801	AGGGCGAGGG	CGAGGGCCGC	CCCTACGAGG GCACCCAGAC CGCCAAGCTG
	TCCCGCTCCC	GCTCCCGGCG	GGGATGCTCC CGTGGGTCTG GCGGTTTCGAC
851	AAGGTGACCA	AGGGTGGCCC	CCTGCCCTTC GCCTGGGACA TCCTGTCCCC
	TTCCACTGGT	TCCACCGGG	GGACGGGAAG CGGACCCTGT AGGACAGGGG
901	TCAGTTCATG	TACGGCTCCA	AGGCCTACGT GAAGCACCCC GCCGACATCC
	AGTCAAGTAC	ATGCCGAGGT	TCCGGATGCA CTTCGTGGGG CGGCTGTAGG
951	CCGACTACTT	GAAGCTGTCC	TTCCCCGAGG GCTTCAAGTG GGAGCGCGTG
	GGCTGATGAA	CTTCGACAGG	AAGGGGCTCC CGAAGTTCAC CCTCGCGCAC
1001	ATGAACTTCG	AGGACGGCGG	CGTGGTGACC GTGACCCAGG ACTCCTCCCT
	TACTTGAAGC	TCCTGCCGCC	GCACCACTGG CACTGGGTCC TGAGGAGGGA
1051	GCAGGACGGC	GAGTTCATCT	ACAAGGTGAA GCTGCGCGGC ACCAACTTCC
	CGTCTTGCCG	CTCAAGTAGA	TGTTCCACTT CGACGCGCCG TGGTTGAAGG
1101	CCTCCGACGG	CCCCGTAATG	CAGAAGAAGA CCATGGGCTG GGAGGCCTCC
	GGAGGCTGCC	GGGGCATTAC	GTCTTCTTCT GGTACCCGAC CCTCCGGAGG
1151	TCCGAGCGGA	TGTACCCCGA	GGACGGCGCC CTGAAGGGCG AGATCAAGCA
	AGGCTCGCCT	ACATGGGGCT	CCTGCCGCGG GACTTCCCGC TCTAGTTCGT
1201	GAGGCTGAAG	CTGAAGGACG	GCGGCCACTA CGACGCTGAG GTCAAGACCA
	CTCCGACTTC	GACTTCTCTG	CGCCGGTGAT GCTGCGACTC CAGTTCTGGT
1251	CCTACAAGGC	CAAGAAGCCC	GTGCAGCTGC CCGGCGCCTA CAACGTCAAC
	GGATGTTCGG	GTTCTTCGGG	CACGTCGACG GGCCGCGGAT GTTGCAGTTG

1301 ATCAAGTTGG ACATCACCTC CCACAACGAG GACTACACCA TCGTGGAACA
TAGTTCAACC TGTAGTGGAG GGTGTTGCTC CTGATGTGGT AGCACCTTGT

1351 GTACGAACGC GCCGAGGGCC GCCACTCCAC CGGCGGCATG GACGAGCTGT
CATGCTTGCC CGGCTCCCGG CGGTGAGGTG GCCGCCGTAC CTGCTCGACA
GFP

1401 ACAAGGCTAG CATGAGCAAG GGAGAAGAAC TCTTTACTGG TGTTGTCCCA
TGTTCCGATC GTACTCGTTC CCTCTTCTTG AGAAATGACC ACAACAGGGT

1451 ATTCTGGTTG AGCTGGATGG TGATGTGAAT GGCCACAAAT TCTCTGTGTC
TAAGACCAAC TCGACCTACC ACTACACTTA CCGGTGTTTA AGAGACACAG

1501 TGGTGAAGGT GAAGGAGATG CAACTTATGG AAAGCTGACT CTGAAGTTCA
ACCACTTCCA CTTCTCTAC GTTGAATACC TTTCGACTGA GACTTCAAGT

1551 TTTGTACAAC AGGAAAGCTG CCAGTGCCTT GGCCAACTCT GGTGACCACC
AAACATGTTG TCCTTTCGAC GGTCACGGAA CCGGTTGAGA CCACTGGTGG

1601 CTGACTTATG GTGTTCAATG TTTCAGCAGG TACCCTGACC ACATGAAGCA
GACTGAATAC CACAAGTTAC AAAGTCGTCC ATGGGACTGG TGTACTTCGT

1651 GCATGACTTC TTTAAATCTG CAATGCCAGA AGGTTATGTT CAGGAGAGGA
CGTACTGAAG AAATTTAGAC GTTACGGTCT TCCAATACAA GTCCTCTCCT

1701 CAATCTTCTT TAAGGATGAT GGAAATTATA AGACAAGGGC AGAAGTGAAG
GTTAGAAGAA ATTCCTACTA CCTTTAATAT TCTGTTCCCG TCTTCACTTC

1751 TTTGAAGGTG ATACACTGGT TAACAGAATT GAGCTGAAAG GCATTGATTT
AAACTTCCAC TATGTGACCA ATTGTCTTAA CTCGACTTTC CGTAACTAAA

1801 TAAGGAAGAT GAAACATTC TGGGTCACAA GCTGGAGTAC AACTATAATT
ATTCCTTCTA CCTTTGTAAG ACCCAGTGTT CGACCTCATG TTGATATTAA

1851 CTCACAATGT TTACATTATG GCAGATAAGC AGAGGAATGG AATTAAGGCT
GAGTGTTACA AATGTAATAC CGTCTATTCG TCTCCTTACC TTAATTCCGA

1901 AATTTCAAGA TTAGACACAA CATTGAGGAT GGATCTGTCC AACTGGCAGA
TTAAAGTTCT AATCTGTGTT GTAACCTCCTA CCTAGACAGG TTGACCGTCT

1951 CCATTACCAG CAGAACACCC CTATTGGTGA TGGCCAGTT CTCCTCCCAG
GGTAATGGTC GTCTTGTTGGG GATAACCACT ACCGGGTCAA GAGGAGGGTC

2001 ATAATCACTA TCTCAGCACT CAATCTGCTC TGTCCAAAGA CCCTAATGAG
TATTAGTGAT AGAGTCGTGA GTTAGACGAG ACAGGTTTCT GGGATTACTC

2051 AAAAGAGACC ACATGGTCTT CCTGGAGTTT GTGACAGCAG CAGGAATTAC
TTTTCTCTGG TGTACCAGGA GGACCTCAA CACTGTCTGTC GTCCTTAATG
LC3B

2101 TCTGGGAATG GATGAGCTGT ACAAGGGAGG TGGATCCATG CCGTCGGAGA
AGACCCTTAC CTAICTGACA TGTTCCCTCC ACCTAGGTAC GGCAGCCTCT

2151 AGACCTTCAA GCAGCGCCGC ACCTTCGAAC AAAGAGTAGA AGATGTCCGA
TCTGGAAGTT CGTCGCGCG TGGAAGCTTG TTTCTCATCT TCTACAGGCT

2201 CTTATTTCGAG AGCAGCATCC AACCAAAATC CCGGTGATAA TAGAACGATA
GAATAAGCTC TCGTCGTAGG TTGGTTTTAG GGCCACTATT ATCTTGCTAT

2251 CAAGGGTGAG AAGCAGCTTC CTGTTCTGGA TAAAACAAAG TTCCTTGATC
GTTCCCACTC TCGTCGAAG GACAAGACCT ATTTTGTTTC AAGGAACATG

2301 CTGACCATGT CAACATGAGT GAGCTCATCA AGATAAATAG AAGGCGCTTA
GACTGGTACA GTTGTACTCA CTCGAGTAGT TCTATTAATC TTCCGCGAAT

2351 CAGCTCAATG CTAATCAGGC CTTCTTCCTG TTGGTGAACG GACACAGCAT
GTCGAGTTAC GATTAGTCCG GAAGAAGGAC AACCACTTGC CTGTGTCGTA

2401 GGTCAGCGTC TCCACACCAA TCTCAGAGGT GTATGAGAGT GAGAAAGATG
CCAGTCGCAG AGGTGTGGTT AGAGTCTCCA CATACTCTCA CTCTTTCTAC

2451 AAGATGGATT CCTGTACATG GTCTATGCCT CCCAGGAGAC GTTCGGGATG
 TTCTACCTAA GGACATGTAC CAGATACGGA GGGTCTCTG CAAGCCCTAC
 HindIII EcoRI EcoRV SalI BglII
 2501 AAATTGTCAG TGTAAGCTT CTGCAGGAAT TCGATATCGT CGACAGATCT
 TTTAACAGTC ACATTTCGAA GACGTCCTTA AGCTATAGCA GCTGTCTAGA
 XhoI XbaI SpeI ApaI
 2551 CTCGAGTCTA GAACTAGTGG GCCCGGTACC TTAATTAATT AAGGTACCAG
 GAGCTCAGAT CTTGATCACC CGGGCCATGG AATTAATTAA TTCCATGGTC

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

AclI	AfeI	AflII	AgeI	AscI	AsiSI	BcgI
BlpI	BmgBI	BsiWI	BspEI	BspQI	BssHII	BstZ17I
EarI	EcoNI	FseI	NruI	PmeI	PmlI	PpuMI
PshAI	PspXI	SapI	ScaI	SwaI		

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

NdeI	CA`TA, TG	240	AccI	GT`MK, AC	2540
SnaBI	TAC GTA	346	BglII	A`GATC, T	2545
SacII	CC, GC`GG	660	Paer7I	C`TCGA, G	2551
NotI	GC`GGCC, GC	668	XhoI	C`TCGA, G	2551
TspMI	C`CCGG, G	680	XbaI	T`CTAG, A	2557
XmaI	C`CCGG, G	680	SpeI	A`CTAG, T	2563
SmaI	CCC GGG	682	PspOMI	G`GGCC, C	2569
SrfI	GCCC GGGC	682	ApaI	G, GGCC`C	2569
AhdI	GACNN, N`NNGTC	891	PvuI	CG, AT`CG	2649
SbfI	CC, TGCA`GG	1049	BclI	T`GATC, A	2805
Bpu10I	CC`TNA, GC	1236	MfeI	C`AATT, G	2898
BbvCI	CC`TCA, GC	1236	BtsI	GCAGTG, NN`	2985
BsgI	GTGCAG (N) ₁₄ , NN`	1290	MluI	A`CGCG, T	3034
SgrAI	CR`CCGG, YG	1379	DraIII	CAC, NNN`GTG	3261
XcmI	CCANNNN, N`NNNNTGG	1383	SfiI	GGCCN, NNN`NGGCC	3918
XmnI	GAANN NNTTC	2153	BspDI	AT`CG, AT	3986
HindIII	A`AGCT, T	2515	ClaI	AT`CG, AT	3986
EcoRI	G`AATT, C	2527	RsrII	CG`GWC, CG	4662
EcoRV	GAT ATC	2535	PciI	A`CATG, T	6064
SalI	G`TCGA, C	2539			

➤ pCMV-mCherry-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 (2618-2639): 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3'

➤ pCMV-mCherry-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
D2816-1μg	pCMV-mCherry-GFP-LC3B	1μg
D2816-100μg	pCMV-mCherry-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