

## pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg

产品编号	产品名称	包装
D2822-1 $\mu$ g	pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg	1 $\mu$ g
D2822-100 $\mu$ g	pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg	100 $\mu$ g

### 产品简介:

- pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg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、红色荧光蛋白mCherry和潮霉素B (Hygromycin B)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共表达红色荧光蛋白mCherry，便于通过mCherry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。

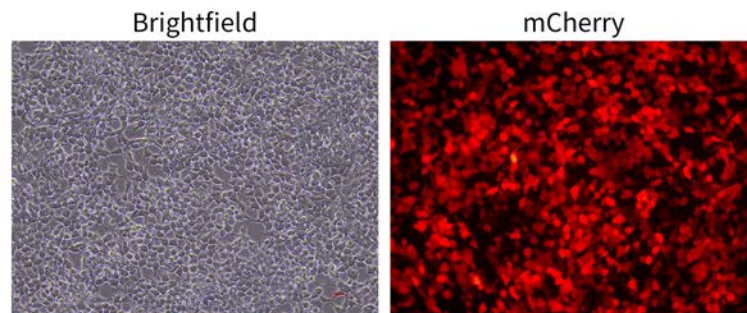
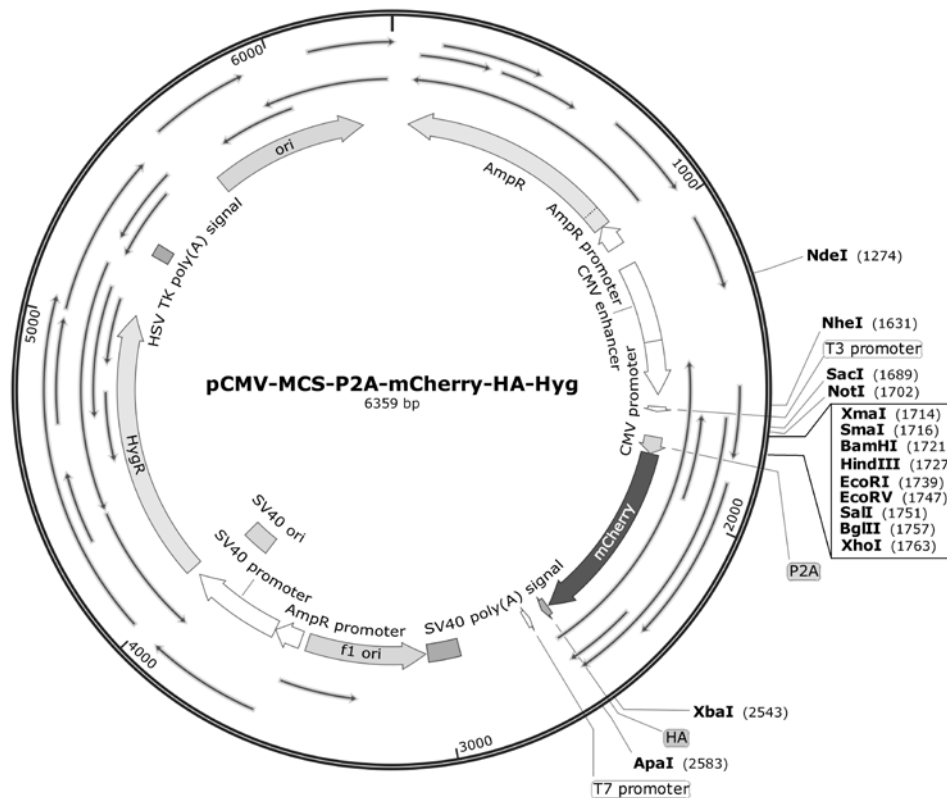


图1. 碧云天pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片，右侧为荧光照片。本图仅供参考，实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 本质粒在多克隆位点和mCherry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)和潮霉素B (Hygromycin B)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Hygromycin B (ST1389)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg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
mCherry	1835-2542
HA	2549-2575
T7 promoter	2630-2648
SV40 poly(A) signal	2922-3043
f1 ori	3050-3505
AmpR promoter	3532-3636
SV40 promoter	3638-3995
SV40 ori	3846-3981
HygR	4030-5055
HSV TK poly(A) signal	5287-5334

➤ pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg质粒(6539bp)的图谱如下:



➤ pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg的多克隆位点的详细图谱如下:

SacI

1651 CGAAATTAAC CCTCACTAAA GGGAACAAAA GCTGGAGCTC CACCGCGGTG  
GCTTTAATTG GGAGTGATTT CCCTTGTTTT CGACCTCGAG GTGGCGCCAC

XmaI

NotI SmaI BamHI HindIII EcoRI EcoRV  
1701 GCGGCCGCTC TAGCCCGGGC GGATCCAAGC TTCTGCAGGA ATTCGATATC  
CGCCGCGGAG ATCGGGCCCG CCTAGGTTTCG AAGACGTCTT TAAGCTATAG

P2A sequence

SalI BglIII XhoI G S G A T N F S L L K  
1751 GTCGACAGAT CTCTCGAGGG AAGCGGAGCT ACTAACTTCA GCCTGCTGAA  
CAGCTGTCTA GAGAGCTCCC TTCGCCTCGA TGATTGAAGT CGGACGACTT

Q A G D V E E N P G P mCherry sequence

1801 GCAGGCTGGA GACGTGGAGG AGAACCCCTGG ACCTATGGTG AGCAAGGGCG  
CGTCCGACCT CTGCACCTCC TCTTGGGACC TGGATAACCAC TCGTTCCCGC

1851 AGGAGGATAA CATGGCCATC ATCAAGGAGT TCATGCGCTT CAAGGTGCAC  
TCCTCCTATT GTACCGGTAG TAGTTCCTCA AGTACGCGAA GTTCCACGTG

1901 ATGGAGGGCT CCGTGAACGG CCACGAGTTC GAGATCGAGG GCGAGGGCGA  
TACCTCCCGA GGCACCTGCC GGTGCTCAAG CTCTAGCTCC CGTCCCGCT

1951 GGGCCGCCCC TACGAGGGCA CCCAGACCGC CAAGCTGAAG GTGACCAAGG  
CCCGGCGGGG ATGCTCCCGT GGTCTGGCG GTTCGACTTC CACTGGTTCC

2001 GTGGCCCCCT GCCCTTCGCC TGGGACATCC TGTCCCCTCA GTTCATGTAC  
CACCGGGGGA CGGGAAGCGG ACCCTGTAGG ACAGGGGAGT CAAGTACATG

2051 GGCTCCAAGG CCTACGTGAA GCACCCCGCC GACATCCCCG ACTACTTGAA  
 CCGAGTTCC GGATGCACTT CGTGGGGCGG CTGTAGGGGC TGATGAACTT

2101 GCTGTCCTTC CCCGAGGGCT TCAAGTGGGA GCGCGTGATG AACTTCGAGG  
 CGACAGGAAG GGGCTCCCGA AGTTCACCCT CGCGCACTAC TTGAAGCTCC

2151 ACGGCGGCGT GGTGACCGTG ACCCAGGACT CCTCCCTGCA GGACGGCGAG  
 TGCCGCCGCA CCACTGGCAC TGGGTCCTGA GGAGGGACGT CCTGCCGCTC

2201 TTCATCTACA AGGTGAAGCT GCGCGGCACC AACTTCCCCT CCGACGGCCC  
 AAGTAGATGT TCCAATTGCA CGCGCCGTGG TTGAAGGGGA GGCTGCCGGG

2251 CGTAATGCAG AAGAAGACCA TGGGCTGGGA GGCCTCCTCC GAGCGGATGT  
 GCATTACGTC TTCTTCTGGT ACCCGACCCT CCGGAGGAGG CTCGCCTACA

2301 ACCCCGAGGA CGGCGCCCTG AAGGGCGAGA TCAAGCAGAG GCTGAAGCTG  
 TGGGGCTCCT GCCGCGGGAC TTCCCGCTCT AGTTTCGTCTC CCACTTCGAC

2351 AAGGACGGCG GCCACTACGA CGCTGAGGTC AAGACCACCT ACAAGGCCAA  
 TTCCTGCCGC CGGTGATGCT GCGACTCCAG TTCTGGTGA TGTTCGGTT

2401 GAAGCCCGTG CAGCTGCCCG GCGCCTACAA CGTCAACATC AAGTTGGACA  
 CTTCCGGCAC GTCGACGGGC CGCGGATGTT GCAGTTGTAG TTCAACCTGT

2451 TCACCTCCCA CAACGAGGAC TACACCATCG TGGAACAGTA CGAACGCGCC  
 AGTGGAGGGT GTTGCTCCTG ATGTGGTAGC ACCTTGTCAT GCTTGCGCGG

2501 GAGGGCCGCC ACTCCACCGG CGGCATGGAC GAGCTGTACA AGTCTAGATA  
 CTCCCGCGCG TGAGGTGGCC GCCGTACCTG CTCGACATGT TCAGATCTAT

XbaI | Y

HA tag  
 P Y D V P D Y A ApaI

2551 CCCATACGAT GTTCCAGATT ACGCTTAAGG GCCCGGTACC TTAATTAATT  
 GGGTATGCTA CAAGGTCTAA TGCGAATTCC CGGGCCATGG AATTAATTAA

➤ pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AcvI	AfeI	AgeI	AhlI	Aor51HI
AscI	AsiGI	BaeI	BbrPI	BcuI	BlpI	Bpu1102I
BsePI	BshTI	BsiWI	Bsp68I	Bsp1720I	BspQI	BssHII
BssNAI	Bst1107I	BstENI	BstZ17I	BtuMI	CelII	CspAI
Eco47III	Eco72I	EcoNI	FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI
I-SceI	LguI	MauBI	MreI	MssI	NruI	PalAI
PauI	PciSI	Pfl23II	PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PmaCI
PmeI	PmlI	PpuMI	Psp5II	PspCI	PspLI	PspPPI
PspXI	PsrI	RigI	SanDI	SapI	SgrDI	SgsI
SmiI	SpeI	SwaI	XagI			

➤ pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg中的单酶切位点包括:

AccI	GT`MK, AC	1752	MluI	A`CGCG, T	3044
AflII	C, TTAA, G	2574	MscI	TGG CCA	1865
ApaI	G, GGCC`C	2583	NdeI	CA`TA, TG	1274
AsiSI	GCG, AT`CGC	4394	NheI	G`CTAG, C	1631
BamHI	G`GATC, C	1721	NotI	GC`GGCC, GC	1702
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	2270	Paer7I	C`TCGA, G	1763
BbvCI	CC`TCA, GC	2373	PciI	A`CATG, T	6307
BcgI	, NN`(N) <sub>10</sub> CGANNNNNNTGC(N) <sub>10</sub> , NN`	641	PflFI	GACN`N, NGTC	4534
BclI	T`GATC, A	2815	PflMI	CCAN, NNN`NTGG	2274
BglII	A`GATC, T	1757	PshAI	GACNN NNGTC	4057

BmgBI	CAC GTC	1813	PspOMI	G`GGCC,C	2579
BmtI	G,CTAG`C	1635	RsrII	CG`GWC,CG	4438
Bpu10I	CC`TNA,GC	2373	SacI	G,AGCT`C	1689
BsgI	GTGCAGNNNNNNNNNNNNNN,NN`	2429	SacII	CC,GC`GG	1696
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	1803	SalI	G`TCGA,C	1751
BspDI	AT`CG,AT	3998	SbfI	CC,TGCA`GG	2190
BsrGI	T`GTAC,A	2535	SfiI	GGCCN,NNN`NGGCC	3933
BstBI	TT`CG,AA	5071	SgrAI	CR`CCGG,YG	2516
BstXI	CCAN,NNNN`NTGG	1697	SmaI	CCC GGG	1716
ClaI	AT`CG,AT	3998	SnaBI	TAC GTA	1380
CspCI	,NN`(N) <sub>11</sub> CAANNNNNGTGG(N) <sub>10</sub> ,NN`	1416	SrfI	GCCC GGGC	1716
EarI	CTCTTCN`NNN,	931	TspMI	C`CCGG,G	1714
Eco53kI	GAG CTC	1687	Tth111I	GACN`N,NGTC	4534
EcoRI	G`AATT,C	1739	XbaI	T`CTAG,A	2543
EcoRV	GAT ATC	1747	XcmI	CCANNNN,N`NNNNTGG	2521
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	1803	XhoI	C`TCGA,G	1763
HindIII	A`AGCT,T	1727	XmaI	C`CCGG,G	1714
HpaI	GTT AAC	2921	XmnI	GAANN NNTTC	735
MfeI	C`AATT,G	2908			

➤ pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg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mCherry primer的序列如下：

T3 primer (1654-1672): 5' AATTAACCCTCACTAAAGG 3'

mCherry primer (1837-1853): 5' CCTCGCCCTTGCTCACC 3'

➤ pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg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
D2822-1μg	pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg	1μg
D2822-100μg	pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg	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-mCherry-HA-Hyg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
ST1389-50mg	Hygromycin B (潮霉素B)	50mg
ST1389-250mg	Hygromycin B (潮霉素B)	250mg
ST1389-1g	Hygromycin B (潮霉素B)	1g
ST1389-5g	Hygromycin B (潮霉素B)	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
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
D2814	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla	1μg/100μg
D2819	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Bla	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