

## pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)

产品编号	产品名称	包装
D2831-1μg	pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	1μg
D2831-100μg	pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	100μg

### 产品简介:

- pCMV-CD81-EGFP是碧云天自行研发的一种可以在哺乳动物细胞中通过CMV启动子表达人源CD81-EGFP融合蛋白的的质粒。本产品可用于外泌体的示踪研究，用于研究外泌体的形成、分泌、靶向和运输机制。该质粒带有卡那霉素(Kanamycin)抗性。
- 外泌体(Exosome)是膜包裹的细胞外囊泡(Extracellular vesicles, EVs)，直径约为40-160nm，具有脂质双分子层结构，天然存在于血液、尿液、脑脊液，以及体外培养细胞的上清液中[1]，几乎所有类型的细胞都可以产生并释放外泌体[2]。如图1所示，细胞膜内吞(Endocytosis)依次形成初级内体(Early sorting endosome, ESE)、次级内体(Late sorting endosome, LSE)和多囊泡体(Multivesicular body, MVB)，其中多囊泡体包含腔内囊泡(Intraluminal vesicles, ILVs)。多囊泡体与细胞膜融合形成外泌体，外泌体携带多种来自其母体细胞的成分(包括核酸、蛋白质、脂类和代谢物等)释放到胞外基质中[3]。外泌体可以被附近或远距离的细胞识别和融合，是细胞间进行相互调控的重要媒介，参与了癌症、神经退行性病变和炎症性疾病等多种疾病的发病过程，影响细胞多方面的功能[4-5]。

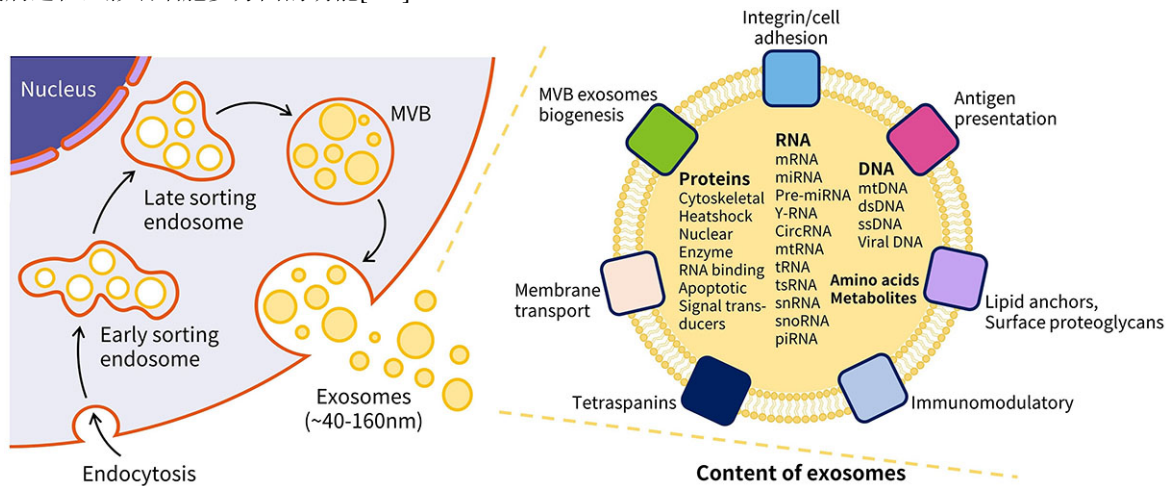


图 1. 外泌体的形成原理及其携带的母体细胞的成分示意图。

- 外泌体标记标志蛋白(Protein biomarkers for exosome)，也称外泌体蛋白标志物(Protein markers for exosome)，可以用于鉴定、观察、标记和纯化外泌体。据外泌体数据库(ExoCarta, <http://www.exocarta.org>)统计来自不同生物、细胞类型和体液的外泌体中已发现9769种蛋白质，ExoCarta列出了100种常见外泌体标记蛋白标志物([http://exocarta.org/exosome\\_markers\\_new](http://exocarta.org/exosome_markers_new))，其中CD9、CD63、CD81、Alix、Flotillin、Ceramide和Tumor susceptibility gene 101 (TSG101)是最常用的外泌体标志蛋白标志物(如图2所示[3])。CD81在人体中由CD81基因编码的蛋白质抗原，是跨膜四超家族(Transmembrane 4 superfamily)成员之一，为4次跨膜蛋白，大量存在于细胞外囊泡的表面，也会出现在普通的细胞膜表面。CD81是最常用的外泌体标志蛋白标志物之一，参与B、T细胞的粘附、形态、激活、增殖和分化等过程，此外，CD81还与病毒感染相关，尤其在丙型肝炎病毒感染侵入细胞过程中发挥着重要作用[6]。

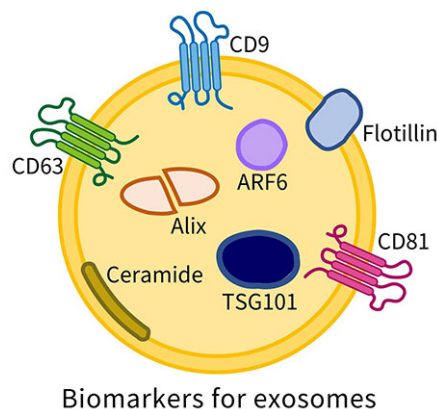


图2. 常见的外泌体标志蛋白标志物示意图。

➤ pCMV-CD81-EGFP质粒转染HEK293T细胞的效果如图3所示。

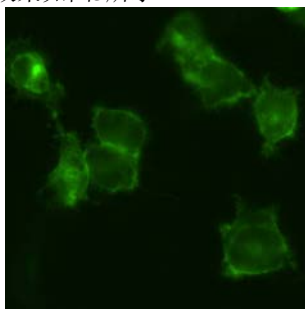
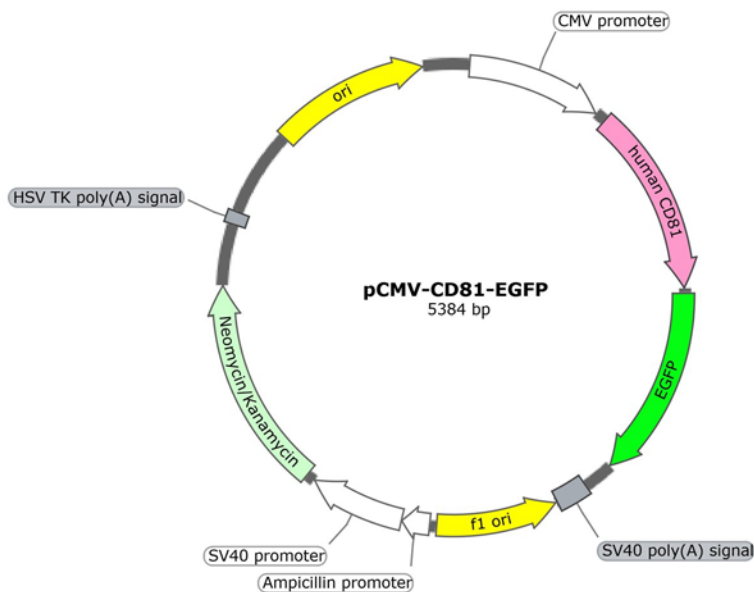


图3. 碧云天生产的pCMV-CD81-EGFP (D2831)质粒转染HEK293T细胞效果图。pCMV-CD81-EGFP质粒转染HEK293T细胞24小时后，经荧光显微镜观察。实际荧光强度会因实验仪器、检测条件的不同而存在差异，本图仅供参考。

➤ pCMV-CD81-EGFP质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
CMV promoter		61-568
human CD81		612-1319
EGFP		1340-2054
SV40 poly(A) signal		2172-2293
f1 ori		2300-2755
Ampicillin promoter		2782-2886
SV40 promoter		2888-3245
Neomycin/Kanamycin resistance gene		3280-4074
HSV TK poly(A) signal		4306-4353
ori		4682-5270

➤ pCMV-CD81-EGFP质粒(5384bp)的图谱如下：



➤ pCMV-CD81-EGFP质粒的详细图谱如下：

```

CMV promoter
551 GTCTATATAA GCAGAGCTGG TTTAGTGAAC CGTCAGATCC GCTAGCGCTA
    CAGATATATT CGTCTCGACC AAATCACTTG GCAGTCTAGG CGATCGCGAT
        human CD81
601 CCGGTGCCAC CATGGGAGTG GAGGGCTGCA CCAAGTGCAT CAAGTACCTG
    GGCCACGGTG GTACCCTCAC CTCCCGACGT GGTTCACGTA GTTCATGGAC

651 CTCTTCGTCT TCAATTTTCGT CTTCTGGCTG GCTGGAGGCG -----
    GAGAAGCAGA AGTTAAAGCA GAAGACCGAC CGACCTCCGC -----

1251 GTGATCATGA TCTTCGAGAT GATCCTGAGC ATGGTGCTGT GCTGTGGCAT
    CACTAGTACT AGAAGCTCTA CTAGGACTCG TACCACGACA CGACACCGTA
        EGFP
    
```

```

1301 CCGGAACAGC TCCGTGTACG GAGGAGGGGG ATCCATGGTG AGCAAGGGCG
      GGCCTTGTGC AGGCACATGC CTCCTCCCCC TAGGTACCAC TCGTTCCCGC

1351 AGGAGCTGTT CACCGGGGTG GTGCCCATCC TGGTTCGAGCT -----
      TCCTCGACAA GTGGCCCCAC CACGGGTAGG ACCAGCTCGA -----

2001 GAGTTCGTGA CCGCCGCCGG GATCACTCTC GGCATGGACG AGCTGTACAA
      CTCAAGCACT GGCGGCGGCC CTAGTGAGAG CCGTACCTGC TCGACATGTT

2051 GTAGTCTAGA TAACTGATCA TAATCAGCCA TACCACATTT GTAGAGGTTT
      CATCAGATCT ATTGACTAGT ATTAGTCGGT ATGGTGTAAT CATCTCCAAA

```

➤ pCMV-CD81-EGFP中没有的酶切位点包括：

AbsI	AccI	Acc65I	Acc113I	AccB7I	AclI	AcvI
AhdI	AhlI	AjiI	AjuI	ApaI	AscI	AsiSI
Asp718I	AspEI	BaeI	BbrPI	BbvCI	BcuI	BglII
BlpI	BmcAI	BmeRI	BmgBI	BoxI	Bpu1102I	BpvUI
BsePI	BsiWI	Bsp68I	Bsp120I	Bsp1720I	BssHII	BssNAI
Bst1107I	BstEII	BstPI	BstPAI	BstZ17I	BtrI	BtuMI
CciNI	CelII	Cfr9I	Cfr42I	DriI	Eam1105I	Ecl136II
Eco32I	Eco53kI	Eco72I	Eco91I	EcoICRI	EcoO65I	EcoRI
EcoRV	FblI	FseI	FspAI	HindIII	I-CeuI	I-PpoI
I-SceI	KflI	KpnI	KspI	MauBI	MluI	MreI
MssI	Nb.BbvCI	NotI	NruI	Nt.BbvCI	PacI	Paer7I
PalAI	PauI	Pfl123II	PflMI	PI-PspI	PI-SceI	Ple19I
PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI	PshAI	Psp5II	Psp124BI
Psp1406I	PspCI	PspEI	PspLI	PspOMI	PspPPI	PspXI
PsrI	PstI	PteI	PvuI	RgaI	RigI	RruI
SacI	SacII	SalI	SanDI	SbfI	ScaI	SdaI
SfaAI	Sfr274I	Sfr303I	SgfI	SgrAI	SgrBI	SgrDI
SgsI	SlaI	SmaI	SmiI	SpeI	SrfI	Sse8387I
SstI	SstII	SwaI	TspMI	Van91I	XhoI	XmaI
XmaCI	XmiI	ZrmI				

➤ pCMV-CD81-EGFP中的单酶切位点包括：

AarI	AfeI	AflII	AflIII	AgeI	ApaLI	AseI
AvaI	BamHI	BmeT110I	BmtI	BsaI	BsmBI	BsoBI
BspEI	BsrGI	BstBI	EagI	Esp3I	FspI	HpaI
KasI	MfeI	MscI	NarI	NdeI	NheI	PciI
PflFI	PluTI	RsrII	SexAI	SfiI	SfoI	SnaBI
StuI	Tth111I	XbaI	XcmI			

➤ pCMV-CD81-EGFP质粒推荐的测序引物序列如下：

CMV-F primer (519-539): 5'-CGCAAATGGGCGGTAGGCGTG-3'

➤ pCMV-CD81-EGFP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
D2831-1μg	pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	1μg
D2831-100μg	pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	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1 $\mu$ g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。
- 100 $\mu$ g包装的本产品质粒浓度为0.25 $\mu$ g/ $\mu$ l, 共400 $\mu$ l。可以直接用于转染细胞。

#### 参考文献:

- Metzelaar MJ, Wijngaard PL, Peters PJ, Sixma JJ, Nieuwenhuis HK, Clevers HC. *J Biol Chem*. 1991. 15; 266(5): 3239-45.
- Luo W, Dai Y, Chen Z, Yue X, Andrade-Powell KC, Chang J. *Commun Biol*. 2020. 10; 3 (1): 114.
- Kalluri R, LeBleu VS. *Science*. 2020. 367 (6478).
- He C, Zheng S, Luo Y, Wang B. *Theranostics*. 2018. 1; 8 (1): 237-255.
- Zhang Y, Bi J, Huang J, Tang Y, Du S, Li P. *Int J Nanomedicine*. 2020. 22; 15: 6917-6934.
- Fénéant L, Levy S, Cocquerel L. CD81 and hepatitis C virus (HCV) infection. *Viruses*. 2014. 6(2):535-72.

#### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C4007-100 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	100 $\mu$ l
C4007-500 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	500 $\mu$ l
C4009-100 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD9-mCherry (外泌体示踪用)	100 $\mu$ l
C4009-500 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD9-mCherry (外泌体示踪用)	500 $\mu$ l
C4011-100 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD63-EGFP (外泌体示踪用)	100 $\mu$ l
C4011-500 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD63-EGFP (外泌体示踪用)	500 $\mu$ l
C4013-100 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	100 $\mu$ l
C4013-500 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	500 $\mu$ l
C4015-100 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	100 $\mu$ l
C4015-500 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	500 $\mu$ l
C4017-100 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	100 $\mu$ l
C4017-500 $\mu$ l	Lenti-CMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	500 $\mu$ l
D2831-1 $\mu$ g	pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	1 $\mu$ g
D2831-100 $\mu$ g	pCMV-CD81-EGFP (外泌体示踪用)	100 $\mu$ g
D2833-1 $\mu$ g	pCMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	1 $\mu$ g
D2833-100 $\mu$ g	pCMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	100 $\mu$ g
D2835-1 $\mu$ g	pCMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	1 $\mu$ g
D2835-100 $\mu$ g	pCMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	100 $\mu$ g
D2837-1 $\mu$ g	pCMV-CD9-mCherry (外泌体示踪用)	1 $\mu$ g
D2837-100 $\mu$ g	pCMV-CD9-mCherry (外泌体示踪用)	100 $\mu$ g
D2839-1 $\mu$ g	pCMV-CD63-EGFP (外泌体示踪用)	1 $\mu$ g
D2839-100 $\mu$ g	pCMV-CD63-EGFP (外泌体示踪用)	100 $\mu$ g
D2841-1 $\mu$ g	pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	1 $\mu$ g
D2841-100 $\mu$ g	pCMV-CD63-mCherry (外泌体示踪用)	100 $\mu$ g

Version 2022.07.21