

pCMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)

产品编号	产品名称	包装
D2833-1μg	pCMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	1μg
D2833-100μg	pCMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	100μg

产品简介:

- pCMV-CD81-mCherry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-mCherry融合蛋白的质粒。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]。

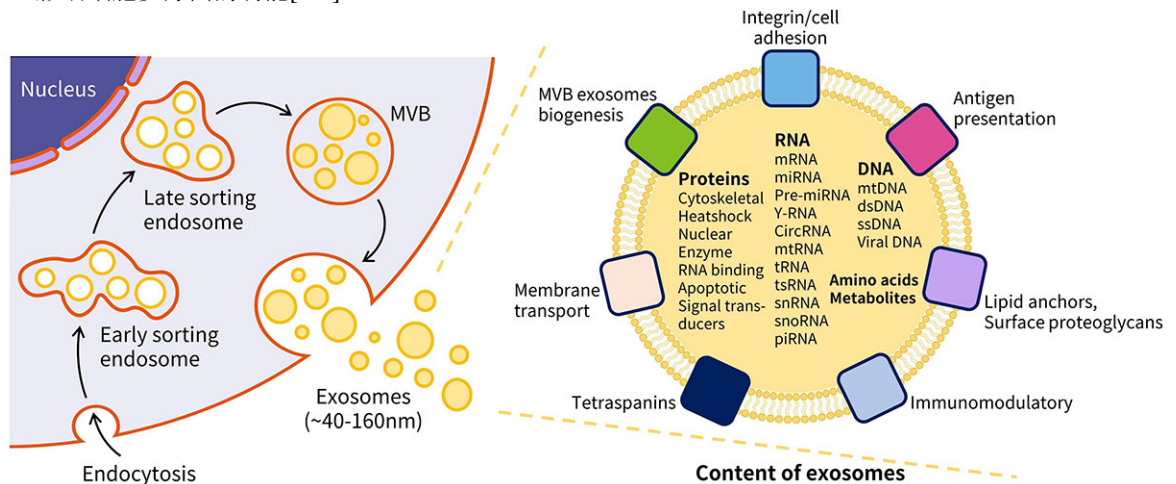


图 1. 外泌体的形成原理及其携带的母体细胞的成分示意图。

- 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)，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]。

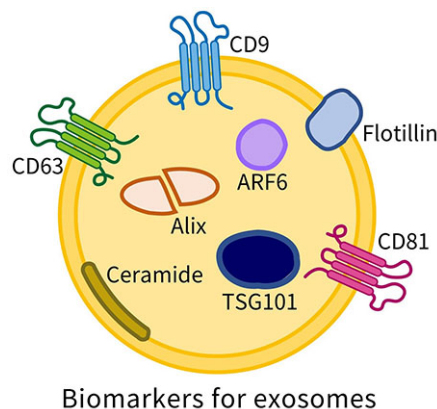


图 2. 常见的外泌体标志蛋白标志物示意图。

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

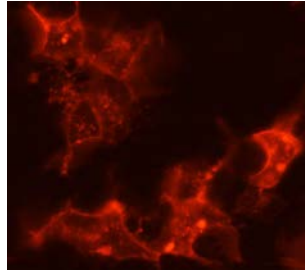
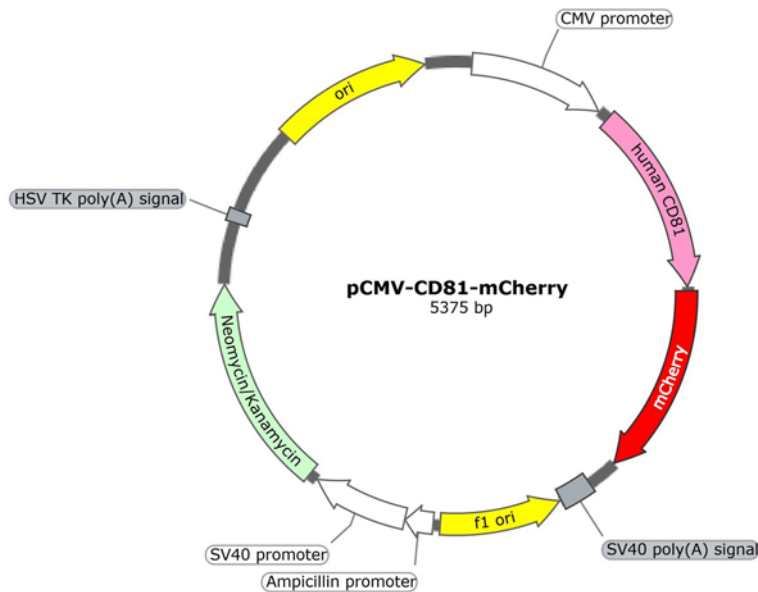


图3. 碧云天生产的pCMV-CD81-mCherry (D2833)质粒转染HEK293T细胞效果图。pCMV-CD81-mCherry质粒转染HEK293T细胞24小时后，经荧光显微镜观察。实际荧光强度会因实验仪器、检测条件的不同而存在差异，本图仅供参考。

➤ pCMV-CD81-mCherry质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
CMV promoter		61-568
human CD81		612-1319
mCherry		1335-2045
SV40 poly(A) signal		2163-2284
f1 ori		2291-2746
Ampicillin promoter		2773-2877
SV40 promoter		2879-3236
Neomycin/Kanamycin resistance gene		3271-4065
HSV TK poly(A) signal		4297-4344
ori		4673-5261

➤ pCMV-CD81-mCherry质粒(5375bp)的图谱如下：



➤ pCMV-CD81-mCherry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 CTCCCACGCT GGTTCACGTA GTTCATGGAC

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

1251 GTGATCATGA TCTTCGAGAT GATCCTGAGC ATGGTGCTGT GCTGTGGCAT
   CACTAGTACT AGAAGCTCTA CTAGGACTCG TACCACGACA CGACACCGTA
   mCherry
1301 CCGGAACAGC TCCGTGTACG GAGGAGGGGG ATCCATGGTG AGCAAGGGCG
    
```

GGCCTTGTCG AGGCACATGC CTCCTCCCC TAGGTACCAC TCGTTCCCGC

1351 AGGAGGATAA CATGGCCATC ATCAAGGAGT TCATGCGCTT -----
 TCCTCCTATT GTACCGGTAG TAGTTCCTCA AGTACGCGAA -----

1951 TCACCTCCCA CAACGAGGAC TACACCATCG TGGAACAGTA CGAACGCGCC
 AGTGGAGGGT GTTGCTCCTG ATGTGGTAGC ACCTTGTCAT GCTTGCGCGG

2001 GAGGGCCGCC ACTCCACCGG CGGCATGGAC GAGCTGTACA AGTAGTCTAG
 CTCCCGGCGG TGAGGTGGCC GCCGTACCTG CTCGACATGT TCATCAGATC

➤ pCMV-CD81-mCherry中没有的酶切位点包括:

AbsI	AccI	Acc65I	Acc113I	AclI	AcvI	AhlI
AjiI	AjuI	ApaI	AscI	AsiSI	Asp718I	BaeI
BbrPI	BcgI	BcuI	BglII	BlpI	BmcAI	BmgBI
BoxI	Bpu1102I	BpvUI	BsePI	BsiWI	Bsp68I	Bsp120I
Bsp1720I	BssHII	BssNAI	Bst1107I	BstPAI	BstZ17I	BtrI
BtuMI	CciNI	CelII	Cfr9I	Cfr42I	Ecl136II	Eco32I
Eco53kI	Eco72I	EcoICRI	EcoRI	EcoRV	FblI	FseI
FspAI	HindIII	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI	KpnI
KspI	MauBI	MluI	MreI	MssI	NotI	NruI
PacI	Paer7I	PalAI	PauI	Pfl23II	PI-PspI	PI-SceI
Ple19I	PmaCI	PmeI	PmlI	PpuMI	PshAI	Psp5II
Psp124BI	Psp1406I	PspCI	PspLI	PspOMI	PspPPI	PspXI
PsrI	PteI	PvuI	RgaI	RigI	RruI	SacI
SacII	SalI	SanDI	ScaI	SfaAI	Sfr274I	Sfr303I
SgfI	SgrBI	SgrDI	SgsI	SlaI	SmaI	SmiI
SpeI	SrfI	SstI	SstII	SwaI	TspMI	XhoI
XmaI	XmaCI	XmiI	ZrmI			

➤ pCMV-CD81-mCherry中的单酶切位点包括:

AarI	AfeI	AflII	AflIII	AgeI	AhdI	AseI
BamHI	BbvCI	BmtI	BsaI	BsmBI	BspEI	BsrGI
BstBI	Bts ^α I	EagI	Esp3I	FspI	HpaI	MfeI
NdeI	NheI	PciI	PflFI	PflMI	PstI	RsrII
SbfI	SexAI	SfiI	SgrAI	SnaBI	Tth111I	XbaI

➤ pCMV-CD81-mCherry质粒推荐的测序引物序列如下:

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

mCherry-C-5 primer (1923-1943): 5'-GCCTACAACGTCAACATCAAG-3'

➤ pCMV-CD81-mCherry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
D2833-1μg	pCMV-CD81-mCherry (外泌体示踪用)	1μg
D2833-100μg	pCMV-CD81-mCherry (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:

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0.25μg/μl，共400μl。可以直接用于转染细胞。

参考文献:

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

相关产品:

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

Version 2022.07.21