

pCMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)

产品编号	产品名称	包装
D2835-1μg	pCMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	1μg
D2835-100μg	pCMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	100μg

产品简介:

- pCMV-CD9-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CD9-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]。

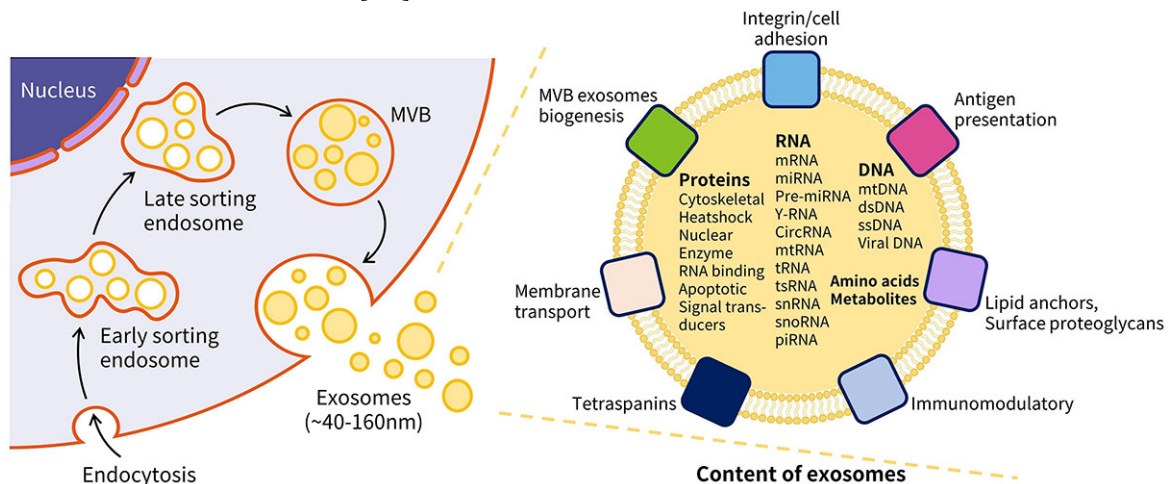


图1. 外泌体的形成原理及其携带的母体细胞的成分示意图。

- 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)，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])。CD9在人体中由CD9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。CD9是最常用的外泌体标志蛋白标志物之一，可以调节细胞黏附和迁移，同时还可以触发血小板活化和聚集，被认为是血小板活化标志物[6]。

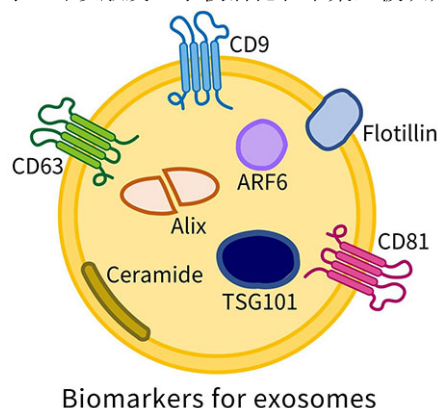


图 2. 常见的外泌体标志蛋白标志物示意图。

➤ pCMV-CD9-EGFP质粒转染HEK293T细胞的效果如图3所示。

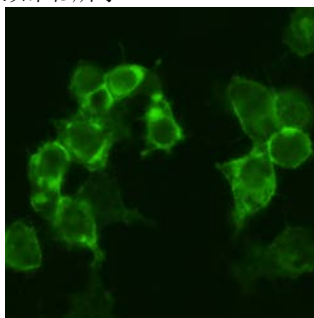
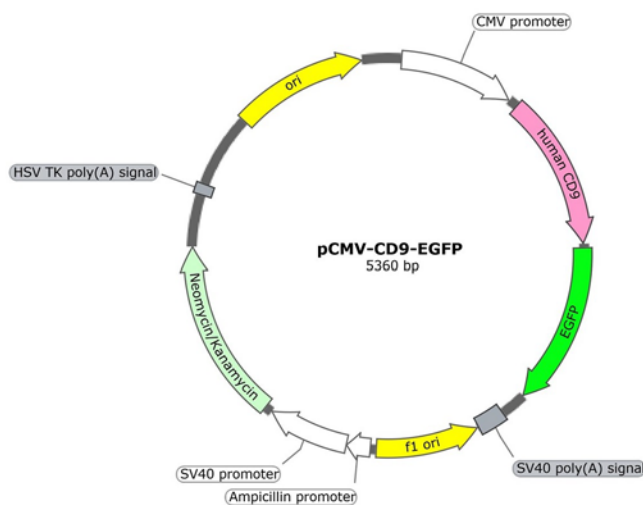


图3. 碧云天生产的pCMV-CD9-EGFP (D2835)质粒转染HEK293T细胞效果图。pCMV-CD9-EGFP质粒转染HEK293T细胞24小时后，经荧光显微镜观察。实际荧光强度会因实验仪器、检测条件的不同而存在差异，本图仅供参考。

➤ pCMV-CD9-EGFP质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
CMV promoter		61-568
human CD9		612-1295
EGFP		1316-2030
SV40 poly(A) signal		2148-2269
f1 ori		2276-2731
Ampicillin promoter		2758-2862
SV40 promoter		2864-3221
Neomycin/Kanamycin resistance gene		3256-4050
HSV TK poly(A) signal		4282-4329
ori		4658-5246

➤ pCMV-CD9-EGFP质粒(5360bp)的图谱如下：



➤ pCMV-CD9-EGFP质粒的详细图谱如下：

```

CMV promoter
551 GTCTATATAA GCAGAGCTGG TTTAGTGAAC CGTCAGATCC GCTAGCGCTA
    CAGATATATT CGTCTCGACC AAATCACTTG GCAGTCTAGG CGATCGCGAT
        human CD9
601 CCGGTGCCAC CATGCCGGTC AAAGGAGGCA CCAAGTGCAT CAAATACCTG
    GGCCACGGTG GTACGGCCAG TTTCTCCGT GGTTCACGTA GTTTATGGAC

651 CTGTTTCGGAT TTAACTTCAT CTTCTGGCTT GCCGGGATTG -----
    GACAAGCCTA AATTGAAGTA GAAGACCGAA CGGCCCTAAC -----

1201 GCGCAGTGGG CATCGGCATT GCCGTGGTCA TGATATTTGG CATGATCTTC
    CGCGTCACCC GTAGCCGTAA CGGCACCAGT ACTATAAACC GTACTAGAAG

1251 AGTATGATCT TGTGCTGTGC TATCCGCAGG AACCGCGAGA TGGTCGGAGG
    TCATACTAGA ACACGACACG ATAGGCGTCC TTGGCGCTCT ACCAGCCTCC
        EGFP
    
```

```

1301 AGGGGGATCC ATGGTGAGCA AGGGCGAGGA GCTGTTCACC GGGGTGGTGC
      TCCCCCTAGG TACCACTCGT TCCCGCTCCT CGACAAGTGG CCCCACCACG

1351 CCATCCTGGT CGAGCTGGAC GGCGACGTAA ACGGCCACAA -----
      GGTAGGACCA GCTCGACCTG CCGCTGCATT TGCCGGTGTG -----

1951 AGAAGCGCGA TCACATGGTC CTGCTGGAGT TCGTGACCGC CGCCGGGATC
      TCTTCGCGCT AGTGTACCAG GACGACCTCA AGCACTGGCG GCGGCCCTAG

2001 ACTCTCGGCA TGGACGAGCT GTACAAGTAG TCTAGATAAC TGATCATAAT
      TGAGAGCCGT ACCTGCTCGA CATGTTTCATC AGATCTATTG ACTAGTATTA

```

➤ pCMV-CD9-EGFP中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AccI	AccIII	Acc65I	Acc113I	AccB7I
AclI	AcvI	AhdI	AhlI	AjiI	Ama87I	Aor13HI
ApaI	AscI	AsiSI	Asp700I	Asp718I	AspEI	AvaI
BaeI	BarI	BbrPI	BbvCI	BcuI	BglII	BlpI
BmcAI	BmeRI	BmeT110I	BmgBI	BoxI	Bpu1102I	BpvUI
BseAI	BsePI	BsiHKCI	BsiWI	BsmBI	BsoBI	Bsp13I
Bsp68I	Bsp120I	Bsp1720I	BspEI	BssHII	BssNAI	Bst1107I
BstEII	BstENI	BstPI	BstPAI	BstXI	BstZ17I	BtrI
BtuMI	CciNI	CelII	Cfr9I	Cfr42I	DriI	Eam1105I
Ecl136II	Eco32I	Eco53kI	Eco72I	Eco88I	Eco91I	EcoICRI
EcoNI	EcoO65I	EcoRI	EcoRV	Esp3I	FblI	FseI
FspAI	HindIII	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI	KpnI
Kpn2I	KspI	MauBI	MluI	MreI	MroI	MroXI
MssI	Nb.BbvCI	NotI	NruI	Nt.BbvCI	PacI	Paer7I
PalAI	PauI	PdmI	Pfl23II	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	XagI
XcmI	XhoI	XmaI	XmaCI	XmiI	XmnI	ZrmI

➤ pCMV-CD9-EGFP中的单酶切位点包括:

AfeI	AflII	AflIII	AgeI	ApaLI	AseI	BamHI
BbsI	BclI	BmtI	BsaI	BspDI	BsrGI	BstBI
ClaI	EagI	EcoO109I	FspI	HincII	HpaI	MfeI
MscI	NdeI	NheI	PciI	PflFI	RsrII	SexAI
SfiI	SnaBI	StuI	TspGWI	Tth111I	XbaI	

➤ pCMV-CD9-EGFP质粒推荐使用的测序引物序列如下:

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

➤ pCMV-CD9-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
D2835-1μg	pCMV-CD9-EGFP (外泌体示踪用)	1μg
D2835-100μg	pCMV-CD9-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：

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. Boucheix C, Benoit P, Frachet P, Billard M, Worthington RE, Gagnon J, Uzan G. J Biol Chem. 1991. 266(1):117-22.

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 2021.07.15