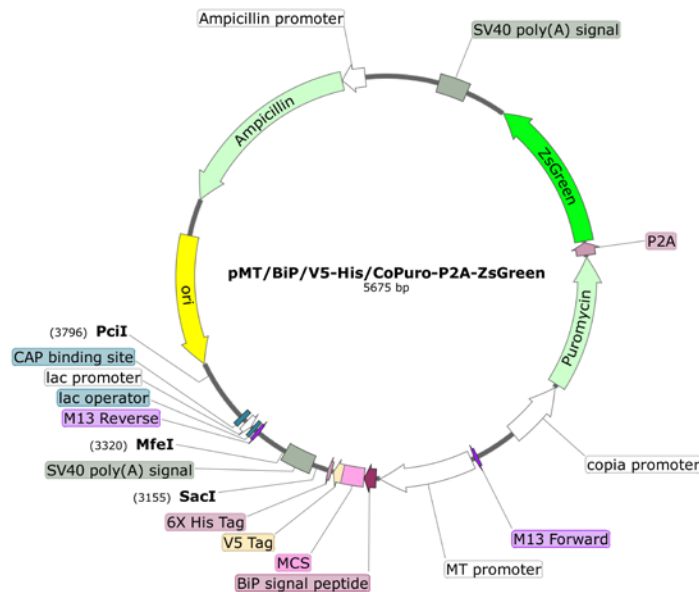


pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)

产品编号	产品名称	包装
D4745-1 μ g	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1 μ g
D4745-100 μ g	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100 μ g

产品简介:

- pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)是碧云天自行研发生产的S2果蝇细胞(*Drosophila Schneider 2*)诱导型表达质粒。本质粒包含*copia*启动子组成型表达Puromycin *N*-acetyltransferase (Puro)基因和ZsGreen绿色荧光蛋白。通过嘌呤霉素 (Puromycin dihydrochloride) (ST551)筛选可以得到含有目的基因的诱导型S2果蝇稳定细胞株,从而有效提高重组蛋白表达量。通过荧光显微镜观察绿色荧光,可以评估S2果蝇细胞的转染效果,辅助摸索磷酸钙法转染S2果蝇细胞的最佳条件;评估嘌呤霉素的筛选效果,辅助摸索嘌呤霉素的使用浓度和筛选时间;通过分选型流式细胞仪筛选高拷贝的稳定细胞株,便于大规模生产。本系列产品还有无荧光表达的pMT/BiP/V5-His/CoPuro (D4739)和表达红色荧光的pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-mCherry (D4742)。
- S2果蝇细胞,也称S2果蝇胚胎细胞、S2细胞、S2昆虫细胞,源自20-24小时龄的黑腹果蝇胚胎晚期的原代细胞培养物[1]。S2果蝇细胞在培养皿或培养瓶中为半贴壁细胞,在摇瓶中为悬浮细胞,无需CO₂,可在室温(26-28°C)培养,生长速度快,细胞密度高,可通过瞬时转染或稳定细胞系表达外源重组蛋白,兼容无血清培养基,已广泛用于大规模重组蛋白的生产[2]。
- 本质粒采用的MT启动子(The *Drosophila* metallothionein promoter)受重金属离子的(Zn²⁺, Cd²⁺)的严格调控,因此S2果蝇细胞可通过加入CuSO₄或CdCl₂瞬时高效启动外源基因表达。建议使用500-1000 μ M CuSO₄或10 μ M CdCl₂诱导外源基因表达。CuSO₄细胞毒性低于CdCl₂, CdCl₂启动效率高于CuSO₄ [3]。
- 本质粒含有BiP分泌信号肽(BiP secretion signal peptide),能够高效的将重组蛋白分泌到培养基上清中,便于后续纯化。BiP分泌信号肽的效率与常见的高效tPA分泌信号肽相当。
- 建议在筛选诱导型S2果蝇稳定细胞株建之前,先通过瞬时转染测试重组蛋白能否表达。嘌呤霉素建议使用浓度为2-10 μ g/ml,筛选时间为3天左右。
- P2A是来源于1型猪捷申病毒2A (Porcine teschovirus-1 2A),是2A肽的一种,编码产生一种具有自我加工能力的短肽,能够在翻译后进行自我剪切,可以实现利用一个转录本翻译出多个蛋白质的功能[4]。P2A目前被认为具有最高的‘剪切’效率,很多情况下接近100%,所以通常P2A上下游蛋白的表达水平相当,但上游蛋白的C端会添加一些额外的P2A肽段的残基,而下游蛋白的N端将会有额外的脯氨酸。本质粒表达的ZsGreen绿色荧光蛋白和嘌呤霉素抗性基因的正常功能均不受额外的氨基酸影响。
- 本质粒在多克隆位点之后含有V5标签(GKIPNPLLGLDST)和His标签(HHHHHH),便于重组蛋白的检测和纯化。
- 本质粒具有氨苄青霉素(Ampicillin)抗性,可利用其氨苄青霉素抗性转化大肠杆菌后筛选阳性菌。
- pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen质粒的图谱如下:



➤ pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen质粒的主要信息如下:

Base pairs	5675
SV40 poly(A) signal	238-372
ZsGreen	561-1256
P2A	1263-1319
Puromycin <i>N</i> -acetyltransferase	1329-1925
<i>cop</i> promoter	1942-2221
M13 Forward	2412-2428
MT promoter	2444-2866
BiP signal peptide	2884-2937
MCS (Multiple Cloning Site)	2938-3035
V5 Tag	3036-3077
6X His Tag	3087-3104
SV40 poly(A) signal	3177-3311
M13 Reverse	3455-3471
<i>lac</i> operator	3479-3495
<i>lac</i> promoter	3503-3533
CAP binding site	3548-3569
ori	3857-4445
Ampicillin	4616-5476
Ampicillin promoter	5477-5581

➤ pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen的多克隆位点的详细图谱如下:

	MT promoter		BiP signal peptide	
2851	TCAGT	GCAAC	TAAAGGGGGG	ATCCGATCTC
	AGTCACGTTG	ATTTCCCCC	TAGGCTAGAG	TTATACTTCA
				ATACGTATAA
			BglII	SmaI
2901	ACTGGCCGTC	GTGGCCTTTG	TTGGCCTCTC	GCTCGGGAGA
	TGACCGGCAG	CACCGGAAAC	AACCGGAGAG	CGAGCCCTCT
				AGAGGTACCG
	KpnI	SpeI	EcoRI	EcoRV
2951	CCGGGGTACC	TACTAGTCCA	GTGTGGTGGA	ATTCTGCAGA
	GGCCCCATGG	ATGATCAGGT	CACACCACCT	TAAGACGTCT
				ATAGGTCTGTG
	NotI	XbaI	ApaI	BstBI
3001	AGTGGCGGCC	GCTCGAGTCT	AGAGGGCCCT	TCGAAGGTAA
	TCACCGCCGG	CGAGCTCAGA	TCTCCCGGGA	AGCTTCCATT
				CGGATAGGGA
			6X His Tag	
3051	AACCCTCTCC	TCGGTCTCGA	TTCTACGCGT	ACCGGTCATC
	TTGGGAGAGG	AGCCAGAGCT	AAGATGCGCA	TGGCCAGTAG
				TAGTGGTAGT
3101	CCATTGAGTT	TAAACCCGCT	GATCAGCCTC	GA
	GGTAACTCAA	ATTTGGGCGA	CTAGTCGGAG	CTGACACGGA
				AGATTCCGGA
			SV40 poly(A) signal	
3151	GAGCTCGCTG	ATCAGCCTCG	ATCGAGGATC	CAGACATGAT
	CTCGAGCGAC	TAGTCGGAGC	TAGCTCCTAG	GTCTGTACTA
				TTCTATGTAA

➤ pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen中没有的酶切位点包括:

AarI	AccB7I	AcvI	AfeI	AflII	AjuI	AloI
Aor51HI	AscI	AsiSI	AspA2I	AvrII	AxyI	BanIII
BarI	BbrPI	BbsI	BbvCI	BfrI	BlnI	BoxI
BpiI	BpuAI	Bsa29I	BsaAI	Bse21I	BseCI	BshVI
Bsp68I	BspDI	BspTI	BspXI	BssNAI	Bst98I	Bst1107I
BstAFI	BstBAI	BstPAI	BstSNI	BstV2I	BstZ17I	Bsu15I
Bsu36I	BsuTUI	BtuMI	ClaI	CspCI	Eco47III	Eco72I
Eco81I	Eco105I	FalI	FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI
I-SceI	KflI	MauBI	MreI	MspCI	Nb.BbvCI	NruI
Nt.BbvCI	PacI	PalAI	PflMI	PI-PspI	PI-SceI	PmaCI
PmlI	Ppu21I	PpuMI	PshAI	Psp5II	PspCI	PspPPI
RgaI	RigI	RruI	SanDI	SfaAI	SgfI	SgrDI
SgsI	SmiI	SnaBI	SrfI	SwaI	Van91I	Vha464I
XcmI	XmaJI					

➤ pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen中的单酶切位点包括:

AbsI	Acc65I	AgeI	AleI	AlwNI	ApaI	BglII
BlnI	BmtI	BsaBI	BsiWI	BspEI	BspQI	BsrGI
BssHII	BstBI	BstEII	BtgZI	DraIII	Eco53kI	EcoRI
EcoRV	HpaI	KpnI	MfeI	MluI	NheI	NotI
NsiI	PciI	PmeI	PspOMI	RsrII	SacI	SacII
SapI	SbfI	ScaI	SexAI	SfiI	SgrAI	SmaI
SpeI	SspI	TspMI	XbaI	XmaI		

➤ pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen质粒中推荐的测序引物序列如下：

M13 Forward (2412-2428): 5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'

M13 Reverse (3455-3471): 5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3'

➤ pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen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
D4745-1μg	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4745-100μg	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	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包装的产品浓度见标签，可以直接用于酶切或者转染细胞。

参考文献：

1. Schneider I. J Embryol Exp Morphol. 1972. 27(2):353-65.
2. Moraes AM, Jorge SA, Astray RM, Suazo CA, Calderón Riquelme CE, et al. Biotechnol Adv. 2012. 30(3):613-28.
3. Kovach MJ, Carlson JO, Beaty BJ. Insect Mol Biol. 1992. 1(1):37-43.
4. Kim JH, Lee SR, Li LH, Park HJ, Park JH, et al. PLoS One. 2011. 6(4):e18556.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D4701-1μg	pCoPuro (S2果蝇细胞稳定细胞株筛选质粒)	1μg
D4701-100μg	pCoPuro (S2果蝇细胞稳定细胞株筛选质粒)	100μg
D4705-1μg	pCoBlast (S2果蝇细胞稳定细胞株筛选质粒)	1μg
D4705-100μg	pCoBlast (S2果蝇细胞稳定细胞株筛选质粒)	100μg
D4708-1μg	pCoHygro (S2果蝇细胞稳定细胞株筛选质粒)	1μg
D4708-100μg	pCoHygro (S2果蝇细胞稳定细胞株筛选质粒)	100μg
D4712-1μg	pMT/V5-His/lacZ (S2果蝇细胞阳性对照质粒)	1μg
D4712-100μg	pMT/V5-His/lacZ (S2果蝇细胞阳性对照质粒)	100μg
D4716-1μg	pMT/V5-His A (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4716-100μg	pMT/V5-His A (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg
D4719-1μg	pMT/V5-His B (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4719-100μg	pMT/V5-His B (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg
D4721-1μg	pMT/V5-His C (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4721-100μg	pMT/V5-His C (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg
D4724-1μg	pMT/BiP/V5-His/EGFP (S2果蝇细胞阳性对照质粒)	1μg
D4724-100μg	pMT/BiP/V5-His/EGFP (S2果蝇细胞阳性对照质粒)	100μg
D4727-1μg	pMT/BiP/V5-His A (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4727-100μg	pMT/BiP/V5-His A (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg

D4732-1μg	pMT/BiP/V5-His B (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4732-100μg	pMT/BiP/V5-His B (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg
D4735-1μg	pMT/BiP/V5-His C (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4735-100μg	pMT/BiP/V5-His C (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg
D4739-1μg	pMT/BiP/V5-His/CoPuro (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4739-100μg	pMT/BiP/V5-His/CoPuro (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg
D4742-1μg	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-mCherry (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4742-100μg	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-mCherry (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg
D4745-1μg	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1μg
D4745-100μg	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	100μg
D4748-1μg	pAc5.1/V5-His/ <i>lacZ</i> (S2果蝇细胞阳性对照质粒)	1μg
D4748-100μg	pAc5.1/V5-His/ <i>lacZ</i> (S2果蝇细胞阳性对照质粒)	100μg
D4751-1μg	pAc5.1/V5-His A (S2果蝇细胞组成型表达质粒)	1μg
D4751-100μg	pAc5.1/V5-His A (S2果蝇细胞组成型表达质粒)	100μg
D4755-1μg	pAc5.1/V5-His B (S2果蝇细胞组成型表达质粒)	1μg
D4755-100μg	pAc5.1/V5-His B (S2果蝇细胞组成型表达质粒)	100μg
D4759-1μg	pAc5.1/V5-His C (S2果蝇细胞组成型表达质粒)	1μg
D4759-100μg	pAc5.1/V5-His C (S2果蝇细胞组成型表达质粒)	100μg

Version 2024.12.23