



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|--------------------------|-------|
| D2951-1μg | pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His | 1μg |
| D2951-100μg | pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His | 100μg |

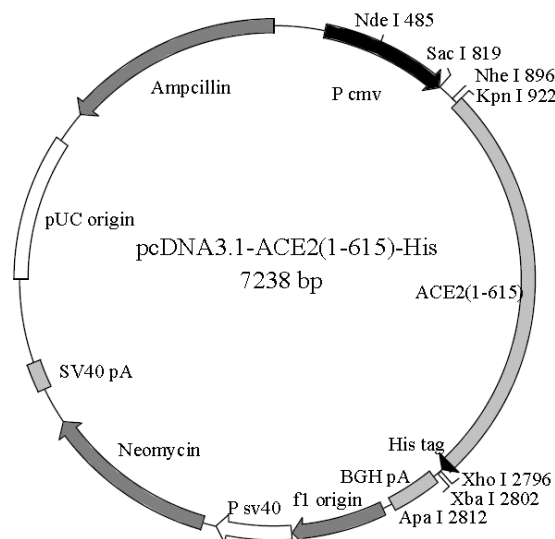
产品简介:

- pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His是碧云天研发的哺乳动物细胞表达质粒, 用于表达C端带有His标签(HHHHHHHH)人血管紧张素转化酶2(Angiotensin converting enzyme2, ACE2)的胞外N端肽酶结构域(peptidase domain, PD) 1-615位的氨基酸所组成的蛋白, 可以方便使抗His标签的抗体来识别ACE2(1-615)蛋白的表达, 免疫共沉淀分析或者蛋白纯化等。该质粒含有CMV启动子, 可以高效启动目的蛋白在细胞中的表达, 质粒为氨苄青霉素抗性。
- ACE2是肾素-血管紧张素系统(Renin-angiotension system, RAS)的重要成员。血管紧张素(Angiotensin II, Ang II)是RAS系统的主要效应分子, 具有促进内皮细胞凋亡和促进炎症因子表达的作用。ACE2主要是通过降解血管紧张素II生成血管紧张素1-7(angiotensin-(1-7))从而发挥机体保护功能。ACE2是在肺、心脏、肾脏和肠中表达的I型膜蛋白, 其胞外域包括N端肽酶结构域(Peptidase domain, PD)及C端Collectrin-like结构域(CLD)。ACE2是SARS冠状病毒(SARS-CoV和SARS-CoV-2)和人类呼吸道冠状病毒NL63的受体。SARS-CoV/SARS-CoV-2通过其Spike蛋白受体结合域(Receptor binding domain, RBD)与ACE2的肽酶结构域结合, 参与病毒的感染过程。SARS-CoV-2 Spike蛋白与ACE2的亲合力是SARS-CoV Spike蛋白与ACE2的亲合力的10-20倍。

- pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His质粒的主要信息如下:

| Feature | Nucleotide | Position |
|--|------------|-----------|
| CMV promoter | | 232-819 |
| T7 promoter and T7 primer binding site | | 863-882 |
| Multiple cloning site | | 895-922 |
| ACE2(1-615) | | 923-2767 |
| His-tag | | 2768-2791 |
| BGH pA | | 2838-3062 |
| f1 origin of ss-DNA replication | | 3108-3536 |
| SV40 promoter | | 3541-3884 |
| Neomycin resistance ORF | | 3946-4740 |
| SV40 polyA signal | | 4914-5044 |
| pUC origin | | 5427-6097 |
| Ampicillin resistance ORF | | 6242-7238 |
| bla promoter | | 7137-7143 |

- pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His质粒(7238bp)的图谱如下:



➤ pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His的多克隆位点的详细图谱如下：

| | NheI | HindIII | KpnI | ACE2 (1-615) |
|------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 895 | GCTAGCGTTT CGATCGCAAA | AAACTTAAGC TTTGAATTTCG | TTGGTACCAT AACCATGGTA | GTCAAGCTCT CAGTTCGAGA |
| 945 | TTCTCAGCCT AAGAGTCGGA | TGTTGCTGTA ACAACGACAT | ACTGCTGCTC TGACGACGAG | AGTCCACCAT TCAGGTGGTA |
| 995 | GCCAAGACAT CGGTTCTGTA | TTTTGGACAA AAAACCTGTT | GTTTAACCAC CAAATTGGTG | GAAGCCGAAG CTTCGGCTTC |
| 1045 | TCAAAGTTCA AGTTTCAAGT | CTTGCTTCTT GAACGAAGAA | GGAATTATAA CCTTAATATT | CACCAATATT GTGGTTATAA |
| 1095 | ATGTCCAAAA TACAGGTTTT | CATGAATAAT GTACTIONATTA | GCTGGGGACA CGACCCCTGT | AATGGTCTGC TTACCAGACG |
| 1145 | GAACAGTCCA CTTGTCAGGT | CACTTGCCCA GTGAACGGGT | AATGTATCCA TTACATAGGT | CTACAAGAAA GATGTTCTTT |
| 1195 | CACAGTCAAG GTGTCAGTTC | CTTCAGCTGC GAAGTCGACG | AGGCTCTTCA TCCGAGAAGT | GCAAAATGGG CGTTTTACCC |
| 1245 | TCTCAGAAGA AGAGTCTTCT | CAAGAGCAAA GTTCTCGTTT | CGGTTGAACA GCCAACTTGT | CAATTCTAAA GTTAAGATTT |
| 1295 | ACCATCTACA TGGTAGATGT | GTACTIONGAAA CATGACCTTT | AGTTTGTAAAC TCAAACATTG | CCAGATAATC GGTCTATTAG |
| 1345 | CTTATTACTT GAATAATGAA | GAACCAGGTT CTGGTCCAA | TGAATGAAAT ACTTACTTTA | AATGGCAAAC TTACCGTTTG |
| 1395 | ACAATGAGAG TGTTACTCTC | GCTCTGGGCT CGAGACCCGA | TGGGAAAGCT ACCCTTTCGA | GGAGATCTGA CCTCTAGACT |
| 1445 | CAGCTGAGGC GTCGACTCCG | CATTATATGA GTAATATACT | AGAGTATGTG TCTCATACAC | GTCTTGAAAA CAGAACTTTT |
| 1495 | AAGAGCAAAT TTCTCGTTTA | CATTATGAGG GTAATACTCC | ACTATGGGGA TGATAACCCCT | TTATTGGAGA AATAACCTCT |
| 1545 | AAGTAAATGG TTCATTTACC | GGTAGATGGC CCATCTACCG | TATGACTACA ATACTGATGT | GCCGCGGCCA CGGCGCCGGT |
| 1595 | GATGTGGAAC CTACACCTTG | ATACCTTTGA TATGGAAACT | AGAGATTAAA TCTCTAATTT | CCATTATATG GGTAATATAC |
| 1645 | TGCCTATGTG ACGGATACAC | AGGGCAAAGT TCCCGTTTCA | TGATGAATGC ACTACTTACG | CTATCCTTCC GATAGGAAGG |
| 1695 | CAATTGGATG GTTAACCTAC | CCTCCCTGCT GGAGGGACGA | CATTTGCTTG GTAAACGAAC | GTGATATGTG CACTATACAC |
| 1745 | TGGACAAATC ACCTGTTTAG | TGTACTIONCTTT ACATGAGAAA | GACAGTTCCC CTGTCAAGGG | TTTGACAGAGA AAACCTGTCT |
| 1795 | AGATGTTACT TCTACAATGA | GATGCAATGG CTACGTTACC | TGGACCAGGC ACCTGGTCCG | CTGGGATGCA GACCCTACGT |
| 1845 | TCAAGGAGGC AGTTCCCTCCG | CGAGAAGTTC GCTCTTCAAG | TTTGTATCTG AAACATAGAC | TTGGTCTTCC AACCAGAAGG |
| 1895 | CAAGGATTCT GTTCCTAAGA | GGGAAAATTC CCCTTTTAAAG | CATGCTAACG GTACGATTGC | GACCCAGGAA CTGGGTCCCT |
| 1945 | AGCAGTCTGC TCGTACAGACG | CATCCACAG GTAGGGGTGTC | CTTGGGACCT GAACCCTGGA | GGGGAAGGGC CCCCTTCCCG |

1995 TCCTTATGTG CACAAAGGTG ACAATGGACG ACTTCCTGAC AGCTCATCAT
 AGGAATACAC GTGTTTCCAC TGTTACCTGC TGAAGGACTG TCGAGTAGTA

2045 GAGATGGGGC ATATCCAGTA TGATATGGCA TATGCTGCAC AACCTTTTCT
 CTCTACCCCG TATAGGTCAT ACTATAACCGT ATACGACGTG TTGGAAGA

2095 GCTAAGAAAT GGAGCTAATG AAGGATTCCA TGAAGCTGTT GGGGAAATCA
 CGATTCTTTA CCTCGATTAC TTCCTAAGGT ACTTCGACAA CCCCTTTAGT

2145 TGTCACTTTC TGCAGCCACA CCTAAGCATT TAAAATCCAT TGGTCTTCTG
 ACAGTGAAAG ACGTCGGTGT GGATTTCGTAA ATTTTAGGTA ACCAGAAGAC

2195 TCACCCGATT TTCAAGAAGA CAATGAAACA GAAATAAACT TCCTGCTCAA
 AGTGGGCTAA AAGTTCTTCT GTTACTTTGT CTTTATTTGA AGGACGAGTT

2245 ACAAGCACTC ACGATTGTTG GACTCTGCC ATTTACTTAC ATGTTAGAGA
 TGTTTCGTGAG TGCTAACAAC CCTGAGACGG TAAATGAATG TACAATCTCT

2295 AGTGGAGGTG GATGGTCTTT AAAGGGGAAA TTCCCAAAGA CCAGTGGATG
 TCACCTCCAC CTACCAGAAA TTTCCCTTTT AAGGGTTTCT GGTCACCTAC

2345 AAAAAGTGGT GGGAGATGAA GCGAGAGATA GTTGGGGTGG TGGAACCTGT
 TTTTTCACCA CCCTCTACTT CGCTCTCTAT CAACCCACC ACCTTGGACA

2395 GCCCCATGAT GAAACATACT GTGACCCCGC ATCTCTGTTC CATGTTTCTA
 CGGGGTACTA CTTTGTATGA CACTGGGGCG TAGAGACAAG GTACAAAGAT

2445 ATGATTACTC ATTCATTCGA TATTACACAA GGACCCTTTA CCAATTCCAG
 TACTAATGAG TAAGTAAGCT ATAATGTGTT CCTGGGAAAT GGTTAAGGTC

2495 TTTCAAGAAG CACTTTGTCA AGCAGCTAAA CATGAAGGCC CTCTGCACAA
 AAAGTTCTTC GTGAAACAGT TCGTCGATTT GTACTTCCGG GAGACGTGTT

2545 ATGTGACATC TCAAACCTCTA CAGAAGCTGG ACAGAAACTG TTCAATATGC
 TACACTGTAG AGTTTGAGAT GTCTTCGACC TGCTTTGAC AAGTTATACG

2595 TGAGGCTTGG AAAATCAGAA CCCTGGACCC TAGCATTGGA AAATGTTGTA
 ACTCCGAACC TTTTAGTCTT GGGACCTGGG ATCGTAACCT TTTACAACAT

2645 GGAGCAAAGA ACATGAATGT AAGGCCACTG CTCAACTACT TTGAGCCCTT
 CCTCGTTTCT TGTAATTACA TTCCGGTGAC GAGTTGATGA AACTCGGGAA

2695 ATTTACCTGG CTGAAAGACC AGAACAAGAA TTCTTTTGTG GGATGGAGTA
 TAAATGGACC GACTTTCTGG TCTTGTCTT AAGAAAACAC CCTACCTCAT

His tag
 H H H H H H H H

2745 CCGACTGGAG TCCATATGCA GACCATCACC ATCACCATCA CCATCACTAG
 GGCTGACCTC AGGTATACGT CTGGTAGTGG TAGTGGTAGT GGTAGTGATC

XhoI XbaI ApaI
 2795 CTCGAGTCTA GAGGGCCCGT TTAAA
 GAGCTCAGAT CTCCGGGCA AATTT

➤ pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His)包括:

| | | | | | | |
|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|
| AfeI | AgeI | AscI | AsiSI | BaeI | BlpI | BmgBI |
| BsiWI | BsmBI | BspDI | BspEI | BsrGI | BstEII | BstXI |
| Bsu36I | ClaI | EcoRV | Esp3I | FseI | HpaI | NotI |
| PacI | PmlI | SbfI | SfiI | SgrAI | SrfI | SwaI |

➤ pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His)包括:

| | | | | | |
|--------|---|------|--------|---------------|------|
| Acc65I | G`GTAC,C | 917 | NruI | TCG CGA | 208 |
| AflII | C`TTAA,G | 908 | Paer7I | C`TCGA,G | 2795 |
| ApaI | G,GGCC`C | 2811 | PflFI | GACN`N,NGTC | 4192 |
| AvrII | C`CTAG,G | 3864 | PflMI | CCAN,NNN`NTGG | 1965 |
| BamHI | G`GATC,C | 1992 | PluTI | G,CGC`C | 4077 |
| BcgI | ,NN`(N) ₁₀ CGA(N) ₆ TGC(N) ₁₀ ,NN` | 6820 | PshAI | GACNN NNGTC | 2751 |
| BmtI | G,CTAG`C | 899 | PspOMI | G`GGCC,C | 2807 |
| BsaBI | GATNN NNATC | 3933 | PspXI | VC`TCGA,GB | 2795 |

| | | | | | |
|---------|---|------|---------|--------------|------|
| BssHII | G`CGCG, C | 4471 | PvuI | CG, AT`CG | 6685 |
| BstBI | TT`CG, AA | 4756 | RsrII | CG`GWC, CG | 4590 |
| BstZ17I | GTA TAC | 5046 | SacI | G, AGCT`C | 818 |
| CspCI | , NN` (N) ₁₁ CAA (N) ₅ GTGG (N) ₁₀ , NN` | 626 | SacII | CC, GC`GG | 1579 |
| DraIII | CAC, NNN`GTG | 3341 | SfoI | GGC GCC | 4075 |
| EagI | C`GGCC, G | 3980 | SmaI | CCC GGG | 3887 |
| Eco53kI | GAG CTC | 816 | SnaBI | TAC GTA | 590 |
| EcoRI | G`AATT, C | 2722 | SpeI | A`CTAG, T | 249 |
| KasI | G`GCGC, C | 4073 | TspMI | C`CCGG, G | 3885 |
| KpnI | G, GTAC`C | 921 | Tth111I | GACN`N, NGTC | 4192 |
| MluI | A`CGCG, T | 228 | XbaI | T`CTAG, A | 2801 |
| MscI | TGG CCA | 4156 | XhoI | C`TCGA, G | 2795 |
| NarI | GG`CG, CC | 4074 | XmaI | C`CCGG, G | 3885 |
| NheI | G`CTAG, C | 895 | | | |

- pcDNA3.1-ACE2(1-615)质粒中推荐使用的测序引物序列如下：
pcDNA3.1 primer (829-848): 5'- CTAGAGAACCCACTGCTTAC -3'
BGH pA primer (2832-2849): 5'- TAGAAGGCACAGTCGAGG -3'
- pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。
- pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His质粒转染HEK293T细胞后的表达效果请参考图1:

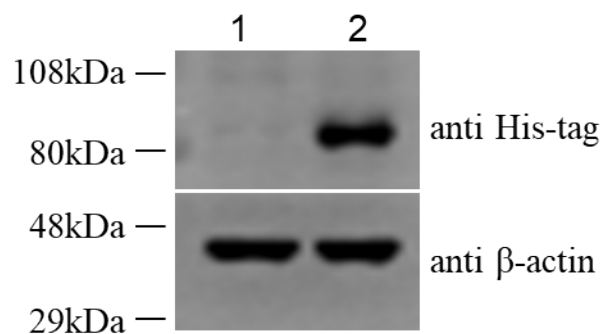


图1: Western blot实验检测SARS-CoV-2 ACE2(1-615)基因在HEK293T细胞的表达。1.转染pcDNA3.1空载质粒; 2.转染pcDNA3.1-SARS-CoV-2-ACE2(1-615)-His质粒。使用碧云天Lipo8000™转染试剂(C0533)将2μg pcDNA3.1或pcDNA3.1-SARS-CoV-2-ACE2(1-615)-His质粒转染六孔板中密度为80%左右的HEK293T细胞, 37°C恒温培养48h后, 弃掉孔内培养液, PBS洗涤三遍后加入150μl Western及IP细胞裂解液(P0013)充分裂解, 4°C离心, 取上清用BCA法测蛋白浓度, 然后经浓度4-20%的预制胶(P0524)电泳, 每孔蛋白总量20μg, 转膜、封闭后使用1:1000稀释的His抗体(AH367)室温孵育1h, 洗涤后1:1000稀释的辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)(A0216)室温孵育1h, 最后经BeyoECL Star(P0018AS)化学发光, 并使用BeyoImager™ 600化学发光成像系统(EI600)拍照记录。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|--------------------------|-------|
| D2951-1μg | pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His | 1μg |
| D2951-100μg | pcDNA3.1-ACE2(1-615)-His | 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。
- 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。

相关产品：

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|---------------------------------|-------|
| D2941-1μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-M-Myc | 1μg |
| D2941-100μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-M-Myc | 100μg |
| D2943-1μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc | 1μg |
| D2943-100μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-N-Myc | 100μg |
| D2945-1μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2-Spike-Myc | 1μg |
| D2945-100μg | pcDNA3.1-SARS-CoV-2- Spike -Myc | 100μg |
| D2947-1μg | pCMV-SARS-CoV-2-E-Myc | 1μg |
| D2947-100μg | pCMV-SARS-CoV-2-E-Myc | 100μg |
| D2949-1μg | pcDNA3.1-ACE2 -Flag | 1μg |
| D2949-100μg | pcDNA3.1-ACE2 -Flag | 100μg |
| D2951-1μg | pcDNA3.1-ACE2(1-615) -His | 1μg |
| D2951-100μg | pcDNA3.1-ACE2(1-615) - His | 100μg |
| D2953-1μg | pUC18-SARS-CoV-2-ORF1ab(168bp) | 1μg |
| D2953-100μg | pUC18-SARS-CoV-2-ORF1ab(168bp) | 100μg |

Version 2020.03.25