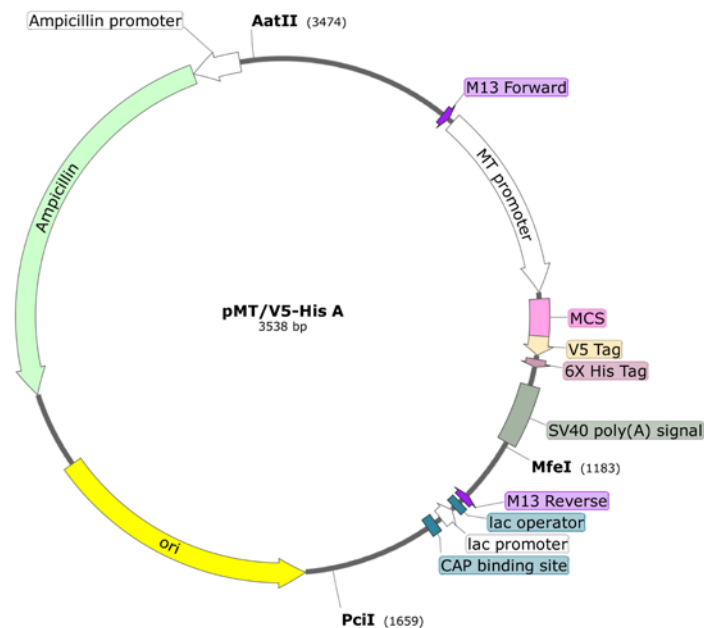


pMT/V5-His A (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)

产品编号	产品名称	包装
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

产品简介:

- pMT/V5-His A (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。本质粒与pMT/V5-His B (D4719)和pMT/V5-His C (D4721)的区别在于多克隆位点(Multiple cloning sites, MCS)的阅读框不同, 便于重组蛋白与C端V5标签和His标签的融合表达。碧云天同时提供相应的阳性对照质粒pMT/V5-His/*lacZ* (D4712)。
- 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500-1000μM CuSO₄或10μM 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]。碧云天同时提供组成型Ac5启动子系列产品: pAc5.1/V5-His A (D4751)、pAc5.1/V5-His B (D4755)、pAc5.1/V5-His C (D4759)。
- 本质粒不带有分泌信号肽(Secretion signal peptide), 如果插入基因不带有原生分泌信号肽, 重组蛋白将在S2果蝇细胞内表达。如果需要重组蛋白分泌到培养基上清中, 建议购买含有BiP分泌信号肽的质粒: pMT/BiP/V5-His A (D4727)、pMT/BiP/V5-His B (D4732)或pMT/BiP/V5-His C (D4735)。
- 本质粒的克隆插入基因应包含一个带有ATG启动密码子的Kozak翻译启动序列((G/A)NNATGG), 以便正确启动重组蛋白的表达。
- 本质粒可与pCoPuro (D4701)、pCoBlast (D4705)或pCoHygro (D4708)共转染至S2果蝇细胞, 后续通过嘌呤霉素(Puromycin Dihydrochloride) (ST551)、灭瘟素S (Blasticidin S HCl) (ST018)或潮霉素B (Hygromycin B) (ST1389)筛选得到含有目的基因的诱导型S2果蝇稳定细胞株。建议在筛选稳定细胞株之前, 先通过瞬时转染测试重组蛋白能否表达。
- 本质粒在多克隆位点之后含有V5标签(GKPIPPELLGLDST)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/V5-His A质粒的图谱如下:



- pMT/V5-His A质粒的主要信息如下:

Base pairs	3538
M13 Forward	379-395
MT promoter	411-833

MCS (Multiple Cloning Site)	849-929
V5 Tag	930-971
6X His Tag	981-998
SV40 poly (A) signal	1040-1174
M13 Reverse	1318-1334
<i>lac</i> operator	1342-1358
<i>lac</i> promoter	1366-1396
CAP binding site	1411-1432
ori	1720-2308
Ampicillin	2479-3339
Ampicillin promoter	3340-3444

➤ pMT/V5-His A的多克隆位点的详细图谱如下:

	MT promoter				KpnI
801	AAATCAAGTG AATCATCTCA GTGCAACTAA AGGGGGGATC TAGATCGGGG				
	TTTAGTTCAC TTAGTAGAGT CACGTTGATT TCCCCCTAG ATCTAGCCCC				
	SpeI	EcoRI	EcoRV		NotI
851	TACCTACTAG TCCAGTGTGG TGGAATTCTG CAGATATCCA GCACAGTGGC				
	ATGGATGATC AGGTCACACC ACCTTAAGAC GTCTATAGGT CGTGTCACCG				
	XhoI	ApaI	BstBI	V5 Tag	
901	GGCCGCTCGA GTCTAGAGGG CCCTTCGAAG GTAAGCCTAT CCCTAACCCCT				
	CCGGCGAGCT CAGATCTCCC GGAAGCTTC CATTCGGATA GGGATTGGGA				
			6X His Tag		
951	CTCCTCGGTC TCGATTCTAC GCGTACCGGT CATCATCACC ATCACCATTG				
	GAGGAGCCAG AGCTAAGATG CGCATGGCCA GTAGTAGTGG TAGTGGTAAC				
				SV40 poly (A) signal	
1001	AGTTTAAACC CGCTGATCAG CCTCGACTGT GCCTTCTAAG ATCCAGACAT				
	TCAAATTTGG GCGACTAGTC GGAGCTGACA CGGAAGATTC TAGGTCTGTA				
1051	GATAAGATAC ATTGATGAGT TTGGACAAAC CACAAC TAGA ATGCAGTGAA				
	CTATTCTATG TAACTACTCA AACCTGTTTG GTGTTGATCT TACGTCACCT				

➤ pMT/V5-His A中没有的酶切位点包括:

AarI	AatI	AbsI	AccIII	AccB7I	AcvI	AdeI
AfeI	AflII	AjuI	AleI	AlfI	AloI	Aor13HI
Aor51HI	AscI	AsiSI	AspI	AspA2I	AsuNHI	AvrII
AxyI	BamHI	BanIII	BarI	BbrPI	BbsI	BbvCI
BfrI	BglII	BlnI	BlpI	BmtI	BoxI	BpiI
BplI	Bpu10I	Bpu1102I	BpuAI	Bsa29I	BsaAI	Bse21I
BseAI	BseCI	BsePI	BshVI	BsiWI	Bsp13I	Bsp19I
Bsp68I	Bsp1407I	Bsp1720I	BspDI	BspEI	BspOI	BspTI
BspXI	BsrGI	BssHII	BssNAI	BssT1I	Bst98I	Bst1107I
BstAFI	BstAUI	BstBAI	BstDSI	BstEII	BstENI	BstPI
BstPAI	BstSNI	BstV2I	BstZ17I	Bsu15I	Bsu36I	BsuTUI
BtgI	BtgZI	BtuMI	CelII	Cfr9I	Cfr42I	ClaI
CpoI	CsiI	CspI	CspCI	DraIII	Ecl136II	Eco47III
Eco53kI	Eco72I	Eco81I	Eco91I	Eco105I	Eco130I	Eco147I
EcoICRI	EcoNI	EcoO65I	EcoT14I	EcoT22I	ErhI	FalI
FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI	Kpn2I
KspI	MabI	MauBI	Mph1103I	MreI	MroI	MspCI
Nb.BbvCI	Nb.Bpu10I	NcoI	NheI	NruI	NsiI	Nt.BbvCI
Nt.Bpu10I	OliI	PacI	PalAI	PasI	PauI	PceI
Pfl123II	PflFI	PflMI	PI-PspI	PI-SceI	PmaCI	PmlI
Ppu21I	PpuMI	PshAI	Psp5II	Psp124BI	PspCI	PspEI
PspLI	PspPPI	PsrI	PsyI	PteI	RgaI	RigI
RruI	RsrII	Rsr2I	SacI	SacII	SanDI	SexAI
SfaAI	SfiI	Sfr303I	SgfI	SgrAI	SgrBI	SgrDI
SgsI	SmaI	SmiI	SnaBI	SrfI	SseBI	SspBI
SstI	SstII	StuI	StyI	SwaI	TspMI	Tth111I
Van91I	Vha464I	XagI	XcmI	XmaI	XmaCI	XmaJI
Zsp2I						

➤ pMT/V5-His A中的单酶切位点包括:

AatII	AccI	Acc65I	AgeI	AhdI	AlwNI	ApaI
AvaI	BanII	BfuAI	BmeT110I	BmgBI	BpmI	BseRI
BseYI	BsgI	BsoBI	BspMI	BspQI	BstAPI	BstBI
EcoRI	EcoRV	HpaI	KasI	KpnI	MfeI	MluI
MscI	NarI	NmeAIII	NotI	PaeR7I	PciI	PfoI
PluTI	PmeI	PsiI	PspFI	PspOMI	PspXI	SalI
SapI	SbfI	ScaI	SfoI	SpeI	SspI	XhoI
ZraI						

➤ pMT/V5-His A质粒中推荐使用的测序引物序列如下:

M13 Forward (379-395): 5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'

M13 Reverse (1318-1334): 5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3'

➤ pMT/V5-His A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
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
—	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0.1μg/μl，共1ml。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.

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/ <i>lacZ</i> (S2果蝇细胞阳性对照质粒)	1μg
D4712-100μg	pMT/V5-His/ <i>lacZ</i> (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 2023.09.26