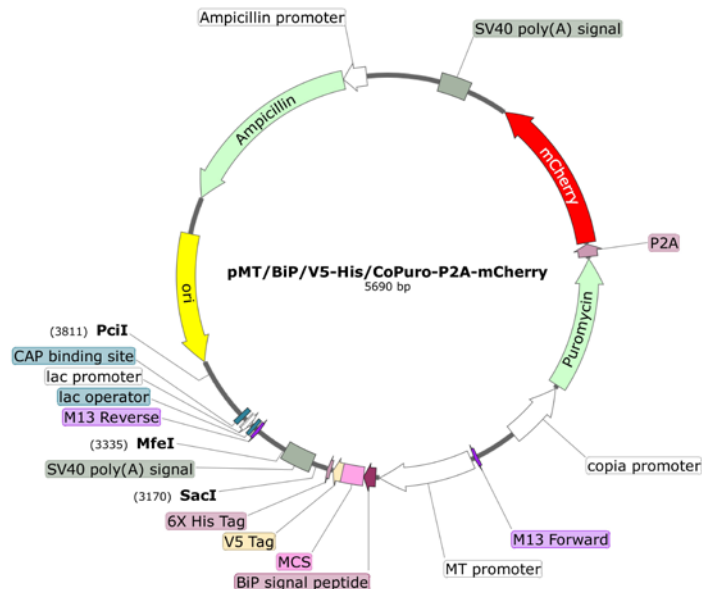


pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-mCherry (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)

产品编号	产品名称	包装
D4742-1 μ g	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-mCherry (S2果蝇细胞诱导型表达质粒)	1 μ g
D4742-100 μ g	pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-mCherry (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-mCherry (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mCherry红色荧光蛋白。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红色荧光,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)和表达绿色的pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-ZsGreen (D4745)。
- 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mCherry红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(GKPIP NPLLGLDST)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-mCherry质粒的图谱如下:



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

Base pairs	5690
SV40 poly(A) signal	238-372
mCherry	561-1271
P2A	1278-1334
Puromycin <i>N</i> -acetyltransferase	1344-1940
<i>cop</i> promoter	1957-2236
M13 Forward	2427-2443
MT promoter	2459-2881
BiP signal peptide	2899-2952
MCS(Multiple Cloning Site)	2953-3050
V5 Tag	3051-3092
6X His Tag	3102-3119
SV40 poly(A) signal	3192-3326
M13 Reverse	3470-3486
<i>lac</i> operator	3494-3510
<i>lac</i> promoter	3518-3548
CAP binding site	3563-3584
ori	3872-4460
Ampicillin	4631-5491
Ampicillin promoter	5492-5596

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

	MT promoter		BiP signal peptide
2851	ATCAAGTGAA TCATCTCAGT GCAACTAAAG GGGGGATCCG ATCTCAATAT		TAGTTCACTT AGTAGAGTCA CGTTGATTTT CCCCCTAGGC TAGAGTTATA
2901	GAAGTTATGC ATATTACTGG CCGTCGTGGC CTTTGTGGC CTCTCGCTCG		CTTCAATACG TATAATGACC GGCAGCACCG GAAACAACCG GAGAGCGAGC
	BglII SmaI KpnI SpeI		EcoRI
2951	GGAGATCTCC ATGGCCCGGG GTACCTACTA GTCCAGTGTG GTGGAATTCT		CCTCTAGAGG TACCGGGCCC CATGGATGAT CAGGTCACAC CACCTTAAGA
	EcoRV NotI		XbaI ApaI BstBI
3001	GCAGATATCC AGCACAGTGG CGGCCGCTCG AGTCTAGAGG GCCCTTCGAA		CGTCTATAGG TCGTGTCCACC GCCGGCGAGC TCAGATCTCC CGGGAAGCTT
	V5 Tag		
3051	GGTAAGCCTA TCCCTAACCC TCTCCTCGGT CTCGATTCTA CGCGTACCGG		CCATTCGGAT AGGGATTGGG AGAGGAGCCA GAGCTAAGAT GCGCATGGCC
	6X His Tag		
3101	TCATCATCAC CATCACCATT GAGTTTAAAC CCGCTGATCA GCCTCGACTG		AGTAGTAGTG GTAGTGGTAA CTCAAATTTG GGCGACTAGT CGGAGCTGAC
			SV40 poly(A) signal
3151	TGCCTTCTAA GGCCTGAGCT CGCTGATCAG CCTCGATCGA GGATCCAGAC		ACGGAAGATT CCGGACTCGA GCGACTAGTC GGAGCTAGCT CCTAGGTCTG
3201	ATGATAAGAT ACATTGATGA GTTTGGACAA ACCACAACCTA GAATGCAGTG		TACTATTCTA TGTAAGTACT CAAACCTGTT TGGTGTGAT CTTACGTCAC

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

AarI	AcvI	AfeI	AflII	AjuI	AlfI	Aor51HI
AscI	AsiSI	AspA2I	AvrII	AxyI	BanIII	BarI
BbrPI	BfrI	BlnI	BoxI	Bsa29I	Bse21I	BseCI
BshVI	Bsp68I	BspDI	BspTI	BspXI	BssNAI	Bst98I
Bst1107I	BstAFI	BstENI	BstPAI	BstSNI	BstZ17I	Bsu15I
Bsu36I	BsuTUI	BtgZI	BtuMI	ClaI	CspCI	Eco47III
Eco72I	Eco81I	Eco105I	EcoNI	FseI	FspAI	I-CeuI
I-PpoI	I-SceI	KflI	MauBI	MreI	MspCI	NruI
PacI	PalAI	PI-PspI	PI-SceI	PmaCI	PmlI	PpuMI
PshAI	Psp5II	PspCI	PspPPI	PsrI	RgaI	RigI
RruI	SanDI	SfaAI	SgfI	SgrDI	SgsI	SmiI
SnaBI	SrfI	SwaI	Vha464I	XagI	XmaJI	

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

AbsI	AccI	Acc65I	AgeI	ApaI	BbsI	BbvCI
BfuAI	BglII	BlpI	BmtI	BsaAI	BsaBI	BsiWI
BspEI	BspMI	BspQI	BsrGI	BssHII	BstBI	DraIII
Eco53kI	EcoRI	EcoRV	HpaI	KpnI	MfeI	MluI
NheI	NotI	NsiI	PciI	PflFI	PflMI	PmeI
PspOMI	RsrII	SacI	SacII	SalI	SapI	ScaI
SexAI	SfiI	SgrAI	SmaI	SpeI	SspI	TspMI
Tth111I	XbaI	XcmI	XmaI			

➤ pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-mCherry质粒中推荐使用的测序引物序列如下：

M13 Forward (2427-2443): 5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'

M13 Reverse (3470-3486): 5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3'

➤ pMT/BiP/V5-His/CoPuro-P2A-mCherry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
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
—	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