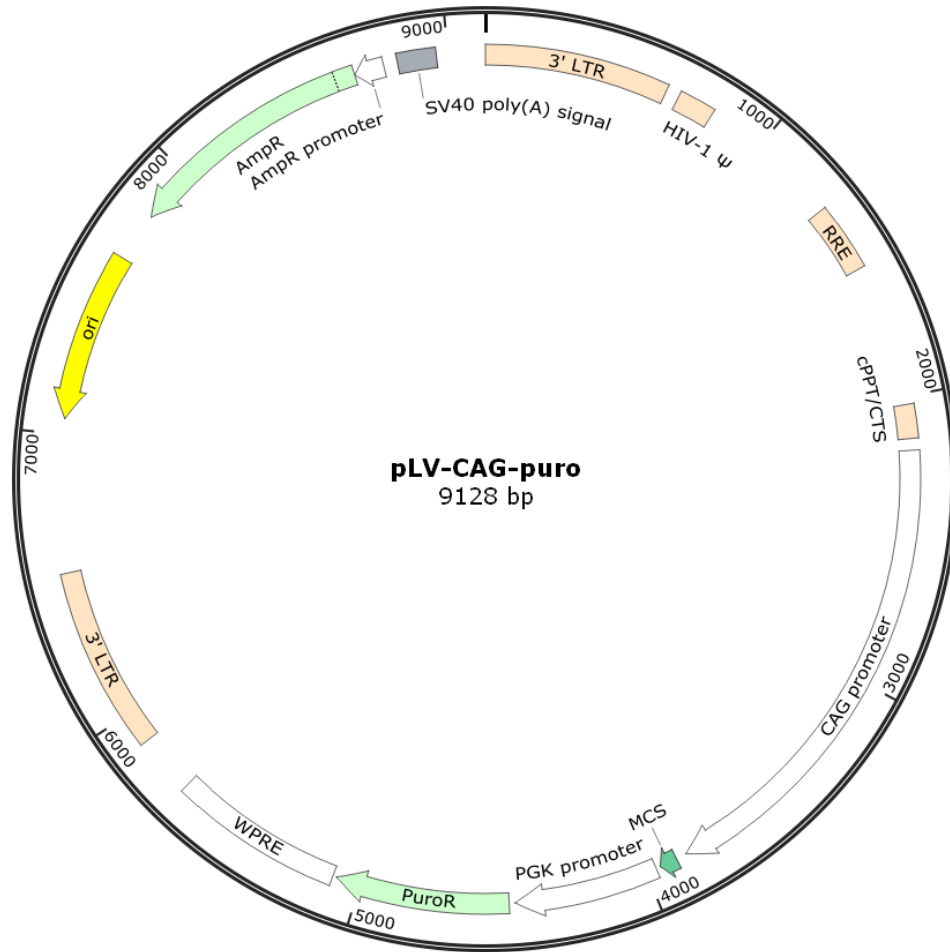


pLV-CAG-Puro

Cat. No. VL3008

慢病毒基因过表达载体

Created with SnapGene®



Multiple Cloning Site

EcoRI

MluI

NotI

TTA TTG TGC TGA CGC GCT AGA AAT GTA CAA GGA ATT CAC GCG TGC GGC CGC
XhoI SmaI BamHI
 CTC GAG TTC GAA CCC GGG CCC GGA TCC CTA GAT AAT TCT ACC GGG TAG GGG

MCS 及其上下游序列:

GGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCT
 TCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGCTGACGCGCTAGAAATGTACAAG
EcoRI MluI NotI XhoI SmaI BamHI
 GAATTCACGCGTGC GGCCGCTCGAGTTTCGAACCCGGGCCC GGATCCCTAGATAATTCTACCGG
 GTAGGGGAGGCGCTTTTCCCAAGGCAGTCTGGAGCATGCGCTTTAGCAGCCCCGCTG

载体特性:

类型: 慢病毒基因过表达载体

基因启动子: CAG promoter
真核细胞筛选抗性: Puromycin
原核抗性: Ampicillin

pLV-CAG-Puro 载体是基于 HIV1 的慢病毒基因过表达载体。该载体的多克隆位点位于 PGK 启动子上游, 在 CAG 启动子驱动下表达目的基因蛋白。CAG 启动子人工构建的组合启动子, 由巨细胞病毒 (the cytomegalovirus, CMV) 早期增强子 (early enhancer element) 和鸡 β -肌动蛋白 (chicken beta-actin) 启动子组成, 用于驱动基因在哺乳动物载体的高水平表达。PGK 启动子驱动表达 Puromycin 抗性基因。利用本载体包装的慢病毒将表达 Puromycin 抗性基因, 可以方便地使用 Puromycin 筛选出稳定过表达目的基因的细胞。

pLV-CAG-Puro 载体包含了生产慢病毒所必须的病毒原件以及提高病毒滴度及基因表达效率的原件。载体结构紧凑, 在保证产生高滴度病毒的同时, 载体对外源基因片段的容量达到 3kb, 多数哺乳动物基因都可以在 pLV-CAG-Puro 中成功表达。

用法说明

pLV-CAG-Puro 载体用于在包括原代培养细胞在内的各种哺乳动物细胞中稳定表达外源基因和 Puromycin 抗性基因。pLV-CAG-Puro 载体与包装载体共转染 HEK293T 细胞后 (包装体系货号 KLV3501 和 KLV3502), 产生高滴度复制缺陷的慢病毒颗粒, 可以直接用于感染细胞或者纯化浓缩后感染细胞。

正向测序引物: pCAGGS-5: GGTTTCGGCTTCTGGCGTGTGACC
反向测序引物: MSCV-R: CAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGC

主要载体元件位置

- 5' LTR: 1–634
- Psi (packaging signal): 681–806
- RRE: 1303–1536
- cPPT/CTS: 2028–2144
- CAG promoter: 2185–3851
- MCS (multiple cloning site): 3887–3948
- PGK promoter: 3964–4463
- Puromycin resistance gene: 4484–5085
- WPRE: 5097–5685
- 3' LTR: 5892–6535
- pUC origin: 7055–7643 (complementary)
- Ampr(R): 7814–8674 (complementary)

原核培养特性

pLV-CAG-Puro 载体为高拷贝质粒, 带有氨苄抗性基因, 可以在含有 100 μ g/ml 氨苄抗生素的 LB 培养基中增殖。宿主菌可以采用 DH5 α , JM109, TOP10 等常见大肠杆菌菌株。

注意: 本载体中的部分序列来自自己公布数据库, 本公司没有对该载体完全测序。