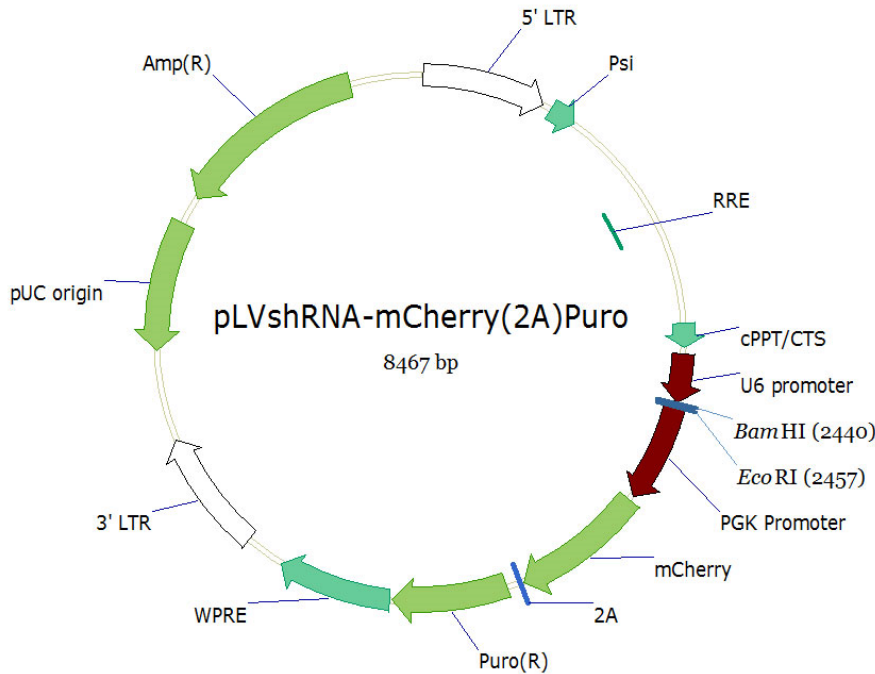


# pLVshRNA-mCherry(2A)Puro

Cat. No. VL3104

慢病毒 RNA 干扰载体



## Multiple Cloning Site

<u>BamHI</u>		<u>EcoRI</u>
CGAGGATCCG	GACAAGCTTC	GAATTCTACC
GCTCCTAGGC	CTGTTCAAG	CTTAAGATGG

### 载体特性:

类型: 慢病毒 RNA 干扰载体

shRNA 启动子: Human U6 promoter

荧光标签: mCherry

真核细胞筛选抗性: Puromycin

原核抗性: Ampicillin

pLVshRNA- mCherry (2A)Puro 载体是基于 HIV1 的慢病毒 RNA 干扰载体, 用于表达人工设计合成的 shRNA, 干扰目标基因的表达。RNA 干扰序列插入到载体中 *BamHI* 和 *EcoRI* 之间, 由 III 类 RNA 聚合酶启动子 U6 启动子转录产生 shRNA, 经剪切后产生成熟 siRNA, 产生干扰效果。

PGK 启动子驱动表达 mCherry 基因和 Puromycin 抗性基因。可以使用 Puromycin 筛选出稳定过表达目的基因的细胞。mCherry 基因有助于判断病毒包装效率以及感染效率, 同时也有助于稳定细胞的筛选。

pLVshRNA- mCherry (2A)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，具有包装效果稳定，病毒滴度高等优点。

## 用法说明

pLVshRNA- mCherry (2A)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干扰目标基因表达和用 puromycin 筛选基因敲减稳定细胞株。pLVshRNA- mCherry (2A)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。

测序引物：

U6F: GACTATCATATGCTTACCGTAACT

U6R: GGTGGATGTGGAATGTGTG

## 主要载体元件位置

- 5' LTR: 1–635
- PBS: 636–653
- Psi (packaging signal): 685–822
- RRE: 1303–1536
- cPPT/CTS: 2028–2151
- Human U6 promoter: 2187–2444
- MCS (multiple cloning site): 2440–2457
- PGK promoter: 2457–2965
- mCherry: 2992–3690
- 2A: 2986–3585
- Puro (R): 3775–4374
- WPRE: 4388–4979
- 3' LTR: 5182–5818
- pUC origin: 6288–6961 (complementary)
- Amp (R): 7106–8102 (complementary)

## 原核培养特性

pLVshRNA- mCherry (2A)Puro 载体为高拷贝质粒，带有氨苄抗性基因，可以在含有 100 µg/ml 氨苄抗生素的 LB 培养基中增殖。宿主菌可以采用 DH5α, JM109, TOP10 等常见大肠杆菌菌种。