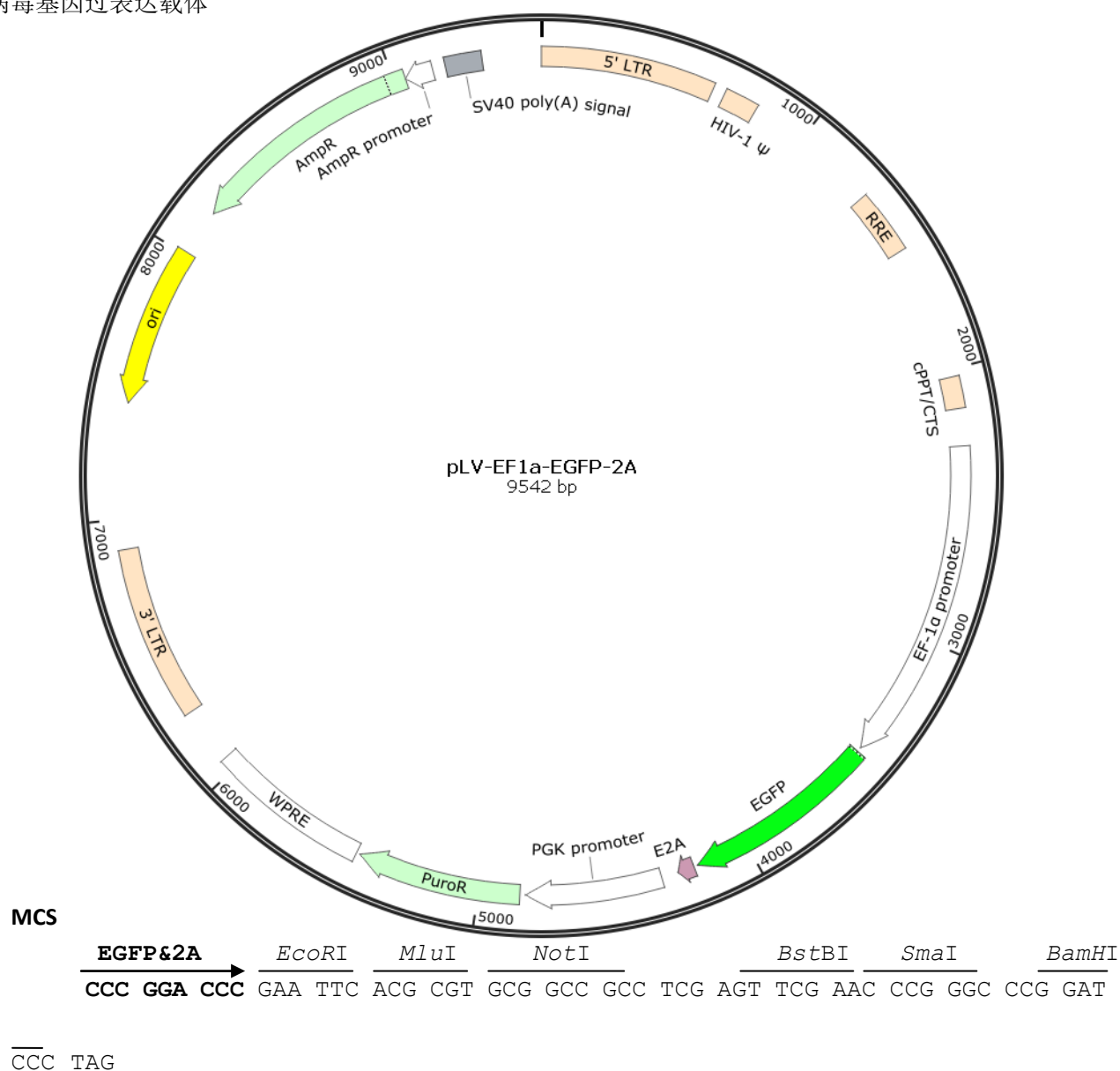


pLV-EF1a-EGFP-2A

Cat. No. VL3403

慢病毒基因过表达载体

Created with SnapGene®



载体特性:

类型: 慢病毒基因过表达载体

基因启动子: EF1a promoter

荧光标签: EGFP

真核细胞筛选抗性: Puromycin

原核抗性: Ampicillin

pLV-EF1a-EGFP-2A 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 EGFP 基因下游, 在 CMV 启动子驱动下表达目的基因和 EGFP 的 mRNA, 翻译为蛋白后, 蛋白中的 2A 序列将目的

蛋白和 EGFP 蛋白切开，从而实现两个蛋白在同一启动子下表达，单独发挥作用。EF1a 启动子来自人类靶向延长因子 1 α (EF1A) 基因，可在多数种类细胞中稳定表达，尤其是某些 CMV 启动子会发生沉默的细胞如干细胞等。pLV-EF1a-EGFP-2A 载体通过将 EGFP 与目的蛋白的分开表达，有效避免 EGFP 标签对目的蛋白功能的影响。

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-EF1a-EGFP-2A 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-EF1a-EGFP-2A 中成功表达。

用法说明

pLV-EF1a-EGFP-2A 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-EF1a-EGFP-2A 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：

正向引物 EF-F: ATTCTCCTTGGAATTTGCCCT

反向引物 PGK-R: GGAGGAGTAGAAGGTGGCG

主要载体元件位置

- 5' LTR: 1–634
- Psi (packaging signal): 681–806
- RRE: 1303–1536
- cPPT/CTS: 2028–2144
- EF1a promoter: 2280–3458
- EGFP: 3577–4293
- E2A: 4309–4368
- MCS (multiple cloning site): 4369–4415
- PGK promoter: 4431–4930
- Puromycin resistance gene: 4951 – 5550
- WPRE: 5564 – 6152
- 3' LTR: 6359 – 6992
- pUC origin: 7523 – 8111 (complementary)
- Amp (R): 8282 – 9142 (complementary)

原核培养特性

pLV-EF1a-EGFP-2A 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 等常见大肠杆菌菌种。

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。