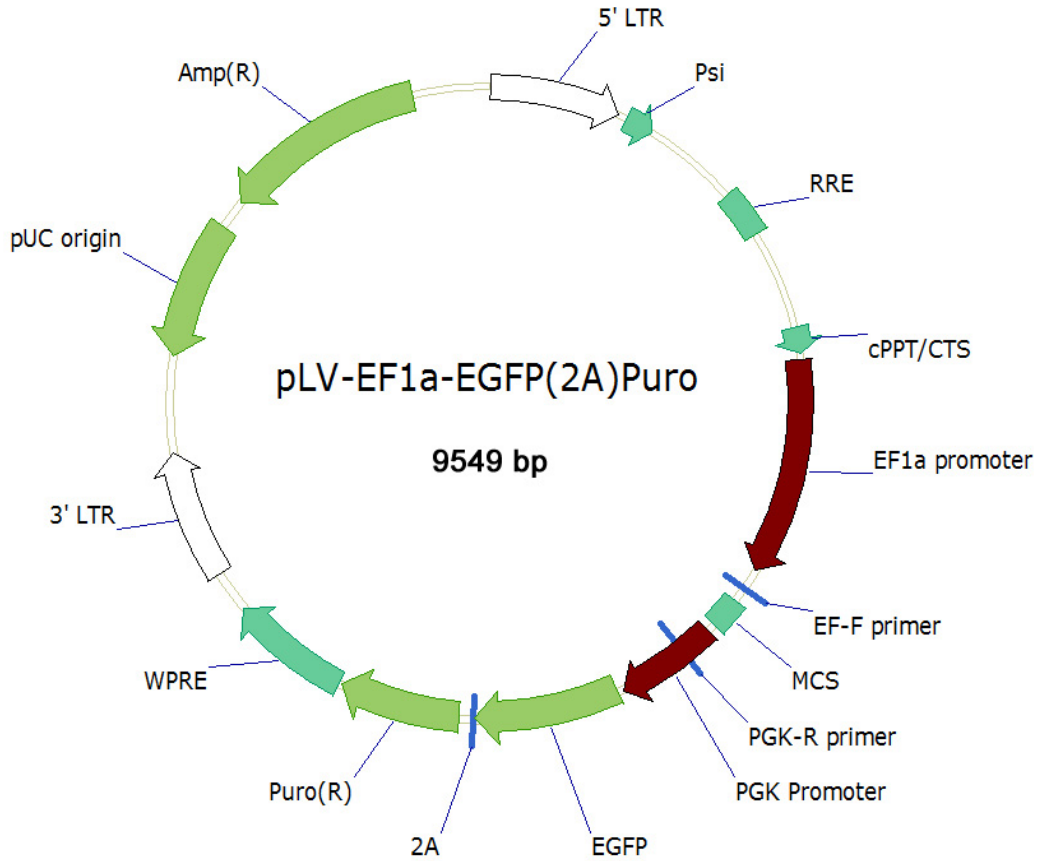


pLV-EF1a-EGFP(2A)Puro

Cat. No. VL3404

慢病毒基因过表达载体



MCS (5'-3')

```

TTT TAAAAGAAAAGGGGGGAT TGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACA XbaI EcoRI
                                     TCTAGAAATGTACAAGGAAT
      MluI      XhoI      SmaI
NoI      BstBI      BamHI
TCACGCGT GCGGCCGCCTCGAGTTCGAACCCGGG CCCGGATCC CTAGATAATTCTACCGGGTAGGGGAGGCGCTTT

TCCCAAGGCAGTCTGGAGCATG
  
```

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)Puro 载体是基于 HIV1 的慢病毒基因过表达载体,采用 EF1a 启动子启动目的基因的表达。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。通过将 EGFP 基因放在不同的启动子,该载体保留了 EGFP 蛋白便利性,也避免了融合标签蛋白对目的基因功能产生影响。

PGK 启动子驱动表达 EGFP 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。EGFP 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。

pLV-EF1a-EGFP(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,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)Puro 中成功表达。

主要载体元件

EF1a 启动子: 来自人类靶向延长因子 1 α (EF1A) 基因,在各种细胞中稳定高效启动表达。在本载体中启动插入多克隆位点中外源基因表达。

PGK 启动子: 来自人磷酸甘油酸酯激酶基因,启动子在多数哺乳动物细胞系中均可以稳定表达。

EGFP: 绿色荧光蛋白 GFP 的突变体。

Puromycin: 嘌呤霉素抗性基因用于筛选转染阳性的细胞。

用法说明

pLV-EF1a-EGFP(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表达外源基因和 Puromycin 抗性基因。pLV-EF1a-EGFP(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:

正向引物 EF-F: ATTCTCCTTGGAATTTGCCCT

反向引物 PGK-R2: GCCAGAGGCCACTTGTGTA

空载体 PCR 产物大小: 371bp

原核培养特性

pLV-EF1a-EGFP(2A)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 等常见大肠杆菌菌种。