



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

pLenti-H1(慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)

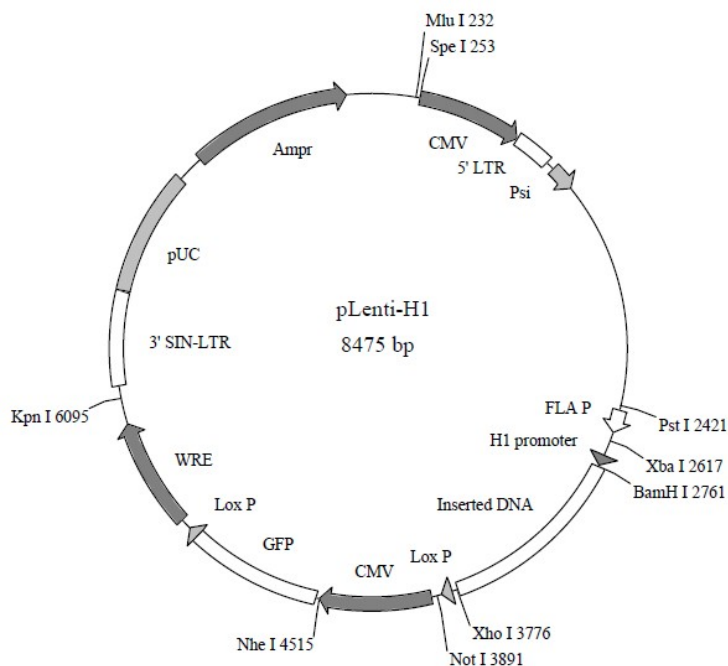
产品编号	产品名称	包装
D8202-1μg	pLenti-H1(慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	1μg
D8202-100μg	pLenti-H1(慢病毒小RNA表达载体, 绿色荧光)	100μg

产品简介:

- pLenti-H1是一种碧云天自行研发的使用特别便捷的用于表达小RNA并同时表达绿色荧光蛋白GFP的重组慢病毒载体。该载体可以用于表达siRNA (small interference RNA), 也称RNAi (RNA interference), 或用于表达microRNA等其它小RNA。一方面, 该载体可用于和pCMV-VSVG质粒(D8215)及pCAG-dR8.9(delta8.9, Δ 8.9)(D8216)共同转染HEK-293T细胞以包装慢病毒; 另一方面, 也可单独用于直接转染细胞, 用于表达siRNA、miRNA等小RNA。
- pLenti-H1含有H1启动子, 适合驱动小RNA的表达。同时pLenti-H1含有CMV启动子驱动表达的绿色荧光蛋白基因GFP。直接转染哺乳动物细胞后或者包装好的病毒感染哺乳动物细胞后, CMV启动子能高效启动绿色荧光蛋白GFP的表达, 可以方便地通过观察绿色荧光来确定转染或感染效率, 从而来推测目的小RNA的表达情况。
- 慢病毒(Lentivirus)是以 HIV-1(人类免疫缺陷1型病毒)为基础发展起来的病毒载体系统。它能高效的将目的基因(蛋白质编码序列或小RNA)导入动物或人的原代细胞或细胞系。慢病毒的宿主范围广, 对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力, 可以将外源基因有效地整合到宿主染色体上, 从而达到持久性表达。被广泛应用到各种细胞系的基因过表达、RNA干扰、microRNA研究以及活体动物实验中。pLenti-H1作为慢病毒载体删除了病毒绝大部分的致病基因, 保留了包装、逆转录和整合所需的 HIV-1顺式作用序列长末端重复序列(LTR), 并对HIV的5'LTR进行改造, 换成CMV启动子, 同时对3'LTR进行了缺失突变, 使病毒载体失去了自我复制能力, 安全性大大提升。pLenti-H1中还加入了WRE元件, 能够显著提高外源基因的表达。
- **pLenti-H1使用特别便捷**, 本载体通常仅须酶切1小时, 无须酶切过夜, 即可切胶回用于质粒构建。本载体由于BamH I和Xho I酶切位点之间预插入了一段长1008 bp的片段, 从而可以通过电泳来区分单酶切和双酶切的片段, 所以pLenti-H1用BamH I和Xho I通常双酶切1小时即可电泳切胶回收目的片段用于后续的连接反应, 无需酶切过夜, 这样可以显著缩短构建质粒所需的时间。目的小RNA的DNA序列合成并退火后可以直接连接入在BamH I和Xho I酶切位点之间。构建好的能表达目的小RNA的pLenti-H1质粒与慢病毒包装质粒pCMV-VSV-G(VSVG)(D8215)和pCAG-dR8.9(也称为delta8.9或Δ 8.9)(D8216)共同转染到HEK-293T细胞中完成慢病毒的包装, 就可以制备获得高滴度、自我复制缺陷并且能表达小RNA的重组慢病毒。
- pLenti-H1为氨苄青霉素抗性。
- pLenti-H1质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
CMV promoter	254-817
5'LTR	818-1016
Psi	1066-1203
FLA P	2447-2570
H1 promoter	2662-2759
Inserted DNA fragment	2766-3774
Lox P	3835-3868
CMV	3918-4520
GFP	4536-5254
Lox P	5275-5308
WRE	5364-5952
3'SIN-LTR	6160-6662
pUC	6664-7337
Ampr	7482-8342

➤ pLenti-H1质粒(8475bp)的图谱如下:



➤ pLenti-H1插入片段附近的详细图谱如下:

```

                Xba I
2601 TAGTACCGGG CCCGCTCTAG AGGGTTTTCC CAGTCACGAC GTTGTAAAAC
    ATCATGGCCC GGGCGAGATC TCCCAAAGG GTCAGTGCTG CAACATTTTG

                H1 promoter
2651 GACGGCCAGT GAATTCATAT TTGCATGTCG CTATGTGTTC TGGGAAATCA
    CTGCCGGTCA CTTAAGTATA AACGTACAGC GATACACAAG ACCCTTTAGT

2701 CCATAAACGT GAAATGTCTT TGGATTTGGG AATCTTATAA GTTCTGTATG
    GGTATTTGCA CTTTACAGAA ACCTAAACCC TTAGAATATT CAAGACATAC

                BamHI                Inserted DNA fragment
2751 AGACCACTCG GATCCGCCAC CATGGAAGAT GCCAAAACA TTAAGAAGGG
    TCTGGTGAGC CTAGGCGGTG GTACCTTCTA CGGTTTTTGT AATTCTTCCC

2801 CCCAGCGCCA TTCTACCCAC TCGAAGACGG GACCGCCGGC GAGCAGCTGC
    GGGTCGCGGT AAGATGGGTG AGCTTCTGCC CTGGCGGCCG CTCGTGACG

2851 ACAAAGCCAT GAAGCGCTAC GCCCTGGTGC CCGGCACCAT CGCCTTTACC
    TGTTTCGGTA CTTGCGGATG CGGGACCACG GGCCGTGGTA GCGGAAATGG

2901 GACGCACATA TCGAGGTGGA CATTACCTAC GCCGAGTACT TCGAGATGAG
    CTGCGTGTAT AGCTCCACCT GTAATGGATG CGGCTCATGA AGCTCTACTC

2951 CGTTCGGCTG GCAGAAGCTA TGAAGCGCTA TGGGCTGAAT ACAAACCATC
    GCAAGCCGAC CGTCTTCGAT ACTTCGCGAT ACCCGACTTA TGTTTGGTAG

3001 GGATCGTGGT GTGCAGCGAG AATAGCTTGC AGTTCTTCAT GCCCGTGTTG
    CCTAGCACCA CACGTCGCTC TTATCGAAGC TCAAGAAGTA CGGGCACAAAC

3051 GGTGCCCTGT TCATCGGTGT GGCTGTGGCC CCAGCTAACG ACATCTACAA
    CCACGGGACA AGTAGCCACA CCGACACCGG GGTCGATTGC TGTAGATGTT

3101 CGAGCGCGAG CTGCTGAACA GCATGGGCAT CAGCCAGCCC ACCGTTCGTAT
    GCTCGCGCTC GACGACTTGT CGTACCCGTA GTCGGTGGG TGGCAGCATA
    
```

3151 TCGTGAGCAA GAAAGGGCTG CAAAAGATCC TCAACGTGCA AAAGAAGCTA
AGCACTCGTT CTTTCCCGAC GTTTTCTAGG AGTTGCACGT TTTCTTCGAT

3201 CCGATCATA AAAAGATCAT CATCATGGAT AGCAAGACCG ACTACCAGGG
GGCTAGTATG TTTTCTAGTA GTAGTACCTA TCGTTCTGGC TGATGGTCCC

3251 CTTCCAAAGC ATGTACACCT TCGTGA CTTC
GAAGGTTTCG TACATGTGGA AGCACTGAAG GGTAAACGGT GGGCCGAAGT

3301 ACGAGTACGA CTTCGTGCCC GAGAGCTTCG ACCGGGACAA AACCATCGCC
TGCTCATGCT GAAGCACGGG CTCTCGAAGC TGGCCCTGTT TTGGTAGCGG

3351 CTGATCATGA ACAGTAGTGG CAGTACCGGA TTGCCCAAGG GCGTAGCCCT
GACTAGTACT TGTCATCACC GTCATGGCCT AACGGGTTC CGCATCGGGA

3401 ACCGCACCGC ACCGCTTGTG TCCGATTTCAG TCATGCCCCG GACCCCATCT
TGGCGTGGCG TGGCGAACAC AGGCTAAGTC AGTACGGGCG CTGGGGTAGA

3451 TCGGCAACCA GATCATCCCC GACACCGCTA TCCTCAGCGT GGTGCCATTT
AGCCGTTGGT CTAGTAGGGG CTGTGGCGAT AGGAGTCGCA CCACGGTAAA

3501 CACCACGGCT TCGGCATGTT CACCACGCTG GGCTACTTGA TCTGCGGCTT
GTGGTGCCGA AGCCGTACAA GTGGTGCAC CCGATGAACT AGACCCGAA

3551 TCGGGTCGTG CTCATGTACC GCTTCGAGGA GGAGCTATTC TTGCGCAGCT
AGCCAGCAC GAGTACATGG CGAAGCTCCT CCTCGATAAG AACGCGTCGA

3601 TGCAAGACTA TAAGATTCAA TCTGCCCTGC TGGTGCCAC ACTATTTAGC
ACGTTCTGAT ATTCTAAGTT AGACGGGACG ACCACGGGTG TGATAAATCG

3651 TTCTTCGCTA AGAGCACTCT CATCGACAAG TACGACCTAA GCAACTTGCA
AAGAAGCGAT TCTCGTGAGA GTAGCTGTTC ATGCTGGATT CGTTGAACGT

3701 CGAGATCGCC AGCGGCGGGG CGCCGCTCAG CAAGGAGGTA GGTGAGGCCG
GCTCTAGCGG TCGCCGCCCC GCGGCGAGTC GTTCTCCAT CCACTCCGGC

XhoI

3751 TGGCCAAACG CTTCACCTA CCAGCTCGAG GTCGACGGTA TCGATAAGCT
ACCGGTTTCG GAAGGTGGAT GGTCGAGCTC CAGCTGCCAT AGCTATTCGA

➤ pLenti-H1中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pLenti-H1)包括:

AscI	AvrII	BsiCI	BsiWI	BsmBI	Bst1107I	BstBI
BstEII	BstXI	Eco72I	HpaI	PmeI	PmlI	PspAI
RsrII	SfiI	SmaI	SphI	SplI	SrfI	StuI
Tth111I	XcaI	XcmI	XmaI			

➤ pLenti-H1中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut pLenti-H1 once)包括:

MluI	A`CGCG, T	232	BlpI	GC`TNA, GC	3727
SpeI	A`CTAG, T	253	EspI	GC`TNA, GC	3727
BssHII	G`CGCG, C	1093	MscI	TGG CCA	3754
SapI	GCTCTTC 8/11	1484	PaeR7I	C`TCGA, G	3776
FseI	GG, CCGG`CC	1532	XhoI	C`TCGA, G	3776
EcoNI	CCTNN`N, NNAGG	1554	BspMI	ACCTGC 10/14	3810
BsmI	GAATG, C 7	1978	NotI	GC`GGCC, GC	3891
PstI	C, TGCA`G	2421	NsiI	A, TGCA`T	3923
XbaI	T`CTAG, A	2617	NheI	G`CTAG, C	4515
BamHI	G`GATC, C	2761	AgeI	A`CCGG, T	4524
BsaBI	GATNN NNATC	3220	PflMI	CCAN, NNN`NTGG	5606
BclI	T`GATC, A	3353	SacII	CC, GC`GG	5868

Bsu36I	CC`TNA, GG	6087	BspMII	T`CCGG, A	6469
Acc65I	G`GTAC, C	6091	DrdI	GACNN, NN`NNGTC	6771
Asp718	G`GTAC, C	6091	AhdI	GACNN, N`NNGTC	7556
KpnI	G, GTAC`C	6095	SspI	AAT ATT	8360

➤ pLenti-H1质粒中推荐使用的测序引物序列如下：

H1 primer (2678–2697): 5'TCGCTATGTGTTCTGGGAAA 3'

➤ pLenti-H1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
D8202-1μg	pLenti-H1	1μg
D8202-100μg	pLenti-H1	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：

- 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。
- pLenti-H1质粒经过BamH I和Xho I酶切后插入目的小RNA(siRNA或者microRNA)构建成为携带小RNA的慢病毒质粒，然后与慢病毒包膜质粒VSV-G(VSVG)(D8215)及包装质粒dR8.9(也称为delta8.9或Δ 8.9)(D8216)共同转染到HEK-293T细胞中完成慢病毒的包装。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D8202-1μg	pLenti-H1	1μg
D8202-100μg	pLenti-H1	100μg
D8215-1μg	pCMV-VSV-G	1μg
D8215-100μg	pCMV-VSV-G	100μg
D8216-1μg	pCAG-dR8.9	1μg
D8216-100μg	pCAG-dR8.9	100μg
D8115-1μg	pShuttle-CMV-C-DsRed	1μg
D8115-100μg	pShuttle-CMV-C-DsRed	100μg
D8117-1μg	pShuttle-CMV-C-EGFP	1μg
D8117-100μg	pShuttle-CMV-C-EGFP	100μg
D8119-1μg	pShuttle-CMV-C-FLag	1μg
D8119-100μg	pShuttle-CMV-C-FLag	100μg
D8121-1μg	pShuttle-CMV-C-HA	1μg
D8121-100μg	pShuttle-CMV-C-HA	100μg
D8123-1μg	pShuttle-CMV-C-His	1μg
D8123-100μg	pShuttle-CMV-C-His	100μg
D8125-1μg	pShuttle-CMV-C-Myc	1μg
D8125-100μg	pShuttle-CMV-C-Myc	100μg
D8127-1μg	pShuttle-CMV-N-DsRed	1μg
D8127-100μg	pShuttle-CMV-N-DsRed	100μg
D8129-1μg	pShuttle-CMV-N-EGFP	1μg
D8129-100μg	pShuttle-CMV-N-EGFP	100μg
D8131-1μg	pShuttle-CMV-N-FLag	1μg
D8131-100μg	pShuttle-CMV-N-FLag	100μg

D8133-1μg	pShuttle-CMV-N-HA	1μg
D8133-100μg	pShuttle-CMV-N-HA	100μg
D8135-1μg	pShuttle-CMV-N-His	1μg
D8135-100μg	pShuttle-CMV-N-His	100μg
D8137-1μg	pShuttle-CMV-N-Myc	1μg
D8137-100μg	pShuttle-CMV-N-Myc	100μg
D8106-1μg	pAdEasy-1	1μg
D8106-100μg	pAdEasy-1	100μg
D8107	pAdEasy-1/BJ5183	200μl

Version 2020.05.14