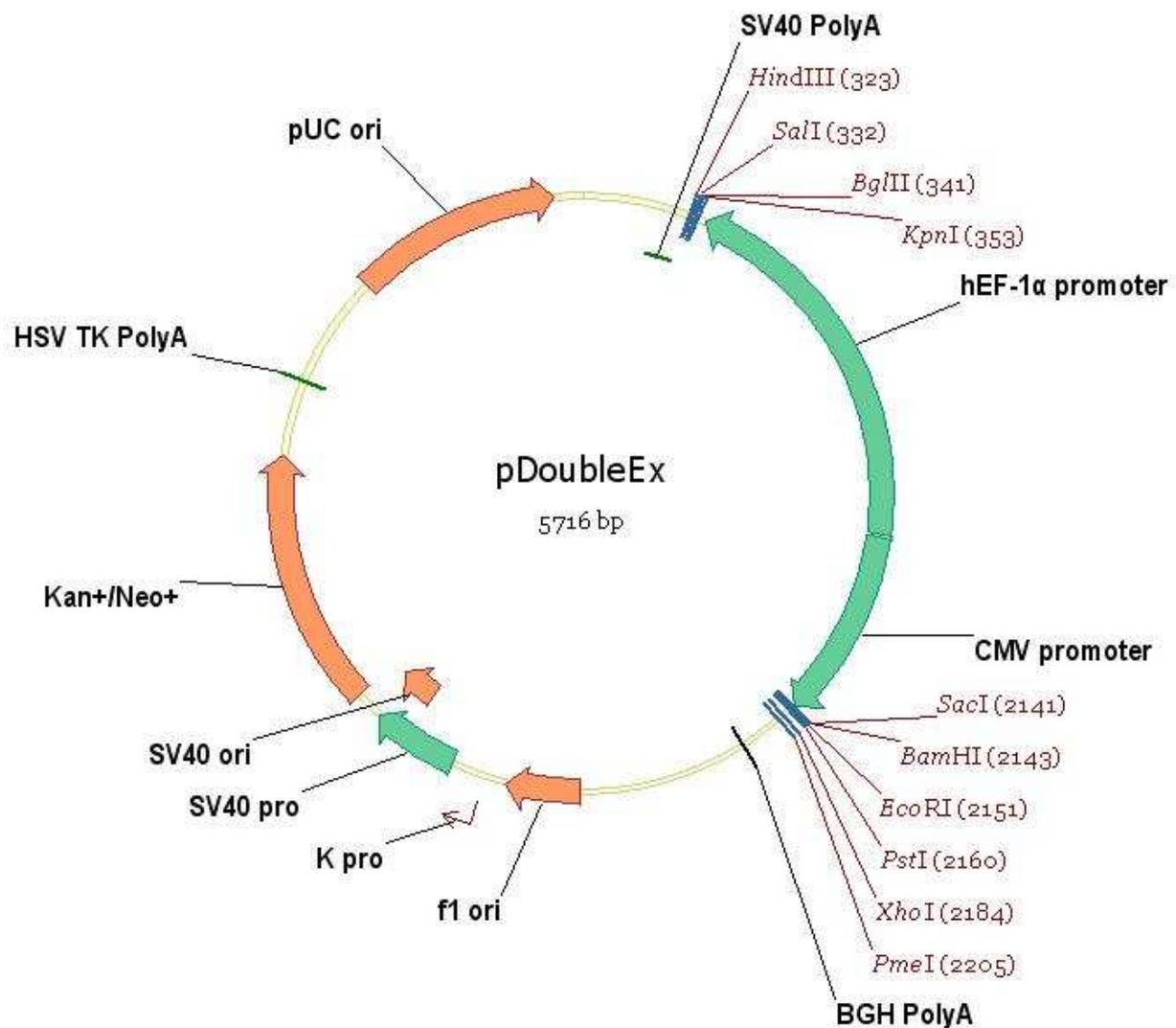


## pDoubleEx 产品说明书

### 产品信息

产品货号	载体名称	出品公司	质粒用途	原核抗性	真核抗性
HG-VPH0839	pDoubleEx	HonorGene	哺乳动物表达载体	Kan+	Neo+

### 质粒图谱



### 多克隆位点 (MCS)

MCS1 (CMV 启动子后): [SacI](#)---[BamHI](#)---[EcoRI](#)---[PstI](#)---[XhoI](#)---[PmeI](#)

MCS2 (hEF1  $\alpha$  启动子后): [KpnI](#)---[BglIII](#)---[SalI](#)---[HindIII](#)

## 载体简介

- (1) 此载体为双基因表达载体，可以同时表达两个基因，且两个基因不会互相干扰。
- (2) 启动子均为强启动子，一为 CMV 启动子，一为 hEF1  $\alpha$  启动子。
- (3) 两个表达框均已验证：CMV 启动子后插入 DsRed-Monomer，hEF1  $\alpha$  启动子后插入 EGFP，转染 293 细胞后观察荧光，可见多且亮的红色荧光和绿色荧光。
- (4) 每个启动子后均有一 MCS，供插入外源基因。红色标记的酶切位点，代表载体上有且仅有一个该酶切位点，可以供基因克隆使用。
- (5) 此载体带有 Neo 抗性基因，可在真核细胞中用 G418 进行筛选。

## Location of features

16-115: attL1

321-219: SV40 PolyA

1544-378: hEF-1  $\alpha$  promoter

1554-2141: CMV promoter

2226-2450: BGH pA

2738-2837: attL2

2857-3087: fl ori

3149-3184: K pro

3261-3529: SV40 pro

3428-3563: SV40 ori

3612-4406: Kan/Neo r

4642-4660: HSV TK polyA

4991-5634: pUC ori

## 测序引物

hEF1  $\alpha$  -f: 439-421

Sequence: 5'-GGTTCATTCTCAAGCCTCA-3'

CMV-f (通用引物): 2091-2111

Sequence: 5'-CGCAAATGGGCGGTAGGCGTG-3'

BGH-r (通用引物): 2237-2220

Sequence: 5'-TAGAAGGCACAGTCGAGG-3'

## Propagation in *E. coli*

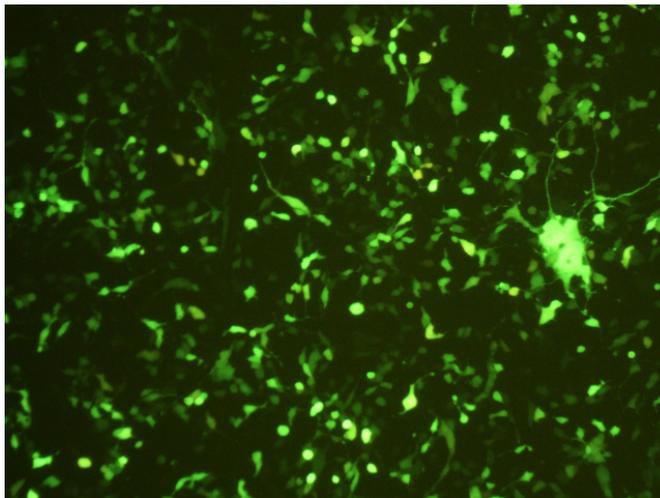
- (1) DH5  $\alpha$ 、JM101、XL1-Blue 等均可。
- (2) 抗性为 Kan<sup>+</sup>，浓度为 30~50ug/ml。
- (3) Copy number: 高 (~500)

## 载体验证

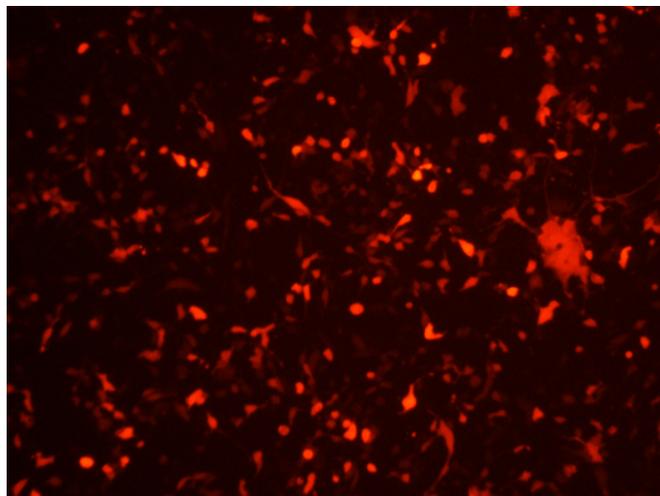
- （1）在 pDoubleEx 的 hEF1  $\alpha$  启动子后插入 EGFP ， 构建 pDoubleEx-EGFP。
- （2）在 pDoubleEx-EGFP 的 CMV 启动子后插入 DsRed-Monomer， 构建 pDoubleEx-EGFP-moRED。
- （3）将 pDoubleEx-EGFP-moRED 转染 293 细胞， 48h 后观察荧光， 可见多且亮的红色和绿色荧光。



pDoubleEx-EGFP-moRED 转染 293 细胞：普通视野



pDoubleEx-EGFP-moRED 转染 293 细胞：绿色视野



pDoubleEx-EGFP-moRED 转染 293 细胞：红色视野