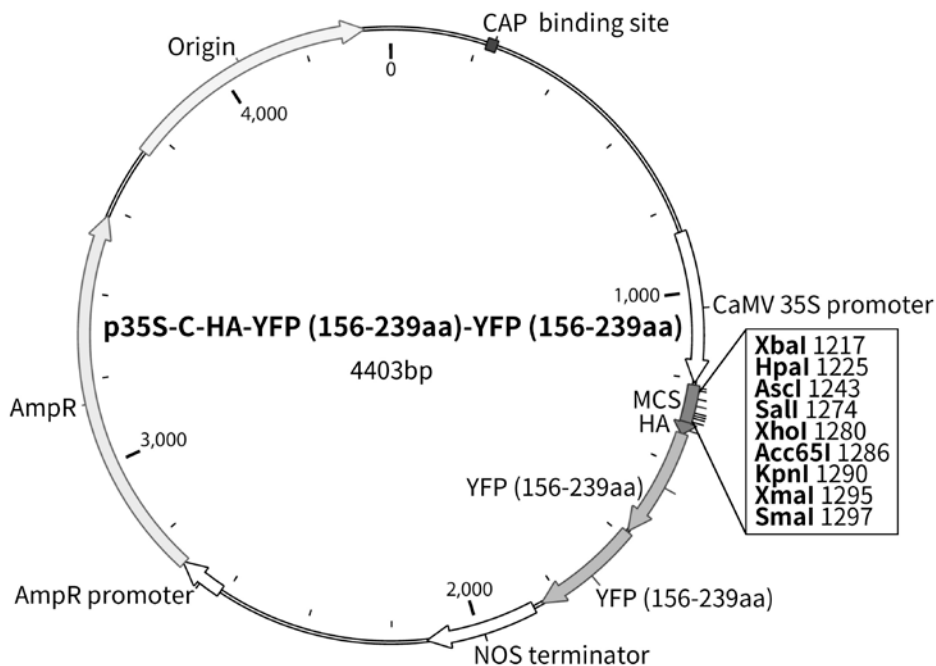


p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC)

产品编号	产品名称	包装
D2687-1 μ g	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1 μ g
D2687-100 μ g	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC)	100 μ g

产品简介:

- p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC)是一种碧云天研发的植物表达质粒，可用于表达目的蛋白与HA标签及两个YFP (156-239aa)的融合蛋白，并用于双分子荧光互补(Bimolecular fluorescence complementation, BiFC)实验。
- 双分子荧光互补(Bimolecular fluorescence complementation, BiFC)是一种直观、快速可视地判断目的蛋白在活细胞中的定位和相互作用的技术，通常与酵母双杂、Co-IP、Pull-down等实验结果相互验证，具有灵敏度高和实验周期短等的优点。BiFC利用荧光蛋白两个 β 片层间的环状结构上有多个特异性位点可插入外源蛋白却不影响其荧光活性的特性，将荧光蛋白切割成两个没有荧光活性的分子片段，然后将两个荧光蛋白片段分别与待研究的两个目的蛋白融合表达。当两个目的蛋白发生相互作用时，两个不完整的非荧光片段重新结合或空间上相互靠近，就会重新形成完整的具有活性的荧光蛋白，在激发光的激发下，荧光蛋白发出荧光。反之，若蛋白没有相互作用，则不能被激发出荧光[1]。
- 本质粒含有CMV 35S启动子，可以高效启动目的蛋白在植物细胞中的表达，在多克隆位点根据阅读框插入目的基因A就可以实现其与HA标签及两个YFP (156-239aa)的融合表达，在含两个YFP (1-155aa)的质粒(D2685)的多克隆区插入目的基因B则可实现它们的融合表达。将这两个表达质粒一起共转化植物原生质体，可用于验证目的蛋白A和B的相互作用关系及相互作用的位置[1]；当A和B蛋白发生相互作用时，可以观察到增强的黄色的YFP荧光信号；当A和B蛋白没有发生相互作用时，则观察不到荧光。**将目标蛋白串联两个YFP分裂片段可以提高荧光互补效率，增强荧光信号[2]。**
- p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)质粒含植物瞬时转染所需元件，不可用于植物稳定遗传株系的构建。
- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)抗性。可利用其氨苄青霉素抗性，转化大肠杆菌后筛选阳性克隆。
- 碧云天研发了多对用于BiFC实验的质粒(D2677和D2679、D2681和D2683、D2685和D2687、D2689和D2691、D2693和D2695、D2697和D2699)，可按实验需求选择其中一对或组合(如D2677与D2679/D2683/D2695/D2699，D2679与D2677/D2681/D2693/D2697)，只需简单地将待验证的外源目的基因分别构建到含N段YFP和C段YFP的融合表达质粒上，搭配碧云天的植物原生质体制备与转化试剂盒(C0360)，或者搭配碧云天的植物原生质体分离试剂盒(C0362)与植物原生质体转染试剂盒(C0563)使用，即可快速完成从载体构建到荧光检测，并确认蛋白与蛋白相互作用的实验过程。
- p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)质粒(4403bp)的图谱如下:



- p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)质粒的主要信息如下:

Feature Nucleotide	Position
CAP binding site	225-246
CaMV 35S promoter	863-1208
MCS (Multiple Cloning Sites)	1217-1300
HA-tag	1301-1330
The first YFP (156-239aa)	1331-1382
The second YFP (156-239aa)	1589-1840
NOS terminator	1865-2117
AmpR promoter	2616-2720
AmpR	2721-3581
Origin	3752-4340

➤ p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)的多克隆位点的详细图谱如下:

	XbaI	HpaI	StuI	AscI	SpeI
1201	AGAGAACACG	GGGGACTCTA	GAGTTAACCG	GGCTCAGGCC	TGGCGCGCCA
	TCTCTTGTGC	CCCCTGAGAT	CTCAATTGGC	CCGAGTCCGG	ACCGCGCGGT
			XhoI		
			SalI	PspXI	KpnI
			AccI	AbsI	Acc65I
	BamHI	ClaI			SmaI
1251	CTAGTGGATC	CATCGATAGT	ACTGTTCGACC	TCGAGGGTAC	CGCTCCCGGG
	GATCACCTAG	GTAGCTATCA	TGACAGCTGG	AGCTCCCATG	GCGAGGGCCC
		HA-tag		YFP (156-239aa) sequence	
1301	ATGTACCCAT	ACGATGTTCC	AGATTACGCT	GACAAGCAGA	AGAACGGCAT
	TACATGGGTA	TGCTACAAGG	TCTAATGCGA	CTGTTCGTCT	TCTTGCCGTA
1351	CAAGGTGAAC	TTCAAGATCC	GCCACAACAT	CGAGGACGGC	AGCGTGCAGC
	GTTCCACTTG	AAGTTCTAGG	CGGTGTTGTA	GCTCCTGCCG	TCGCACGTCC
1401	TCGCCGACCA	CTACCAGCAG	AACACCCCCA	TCGGCGACGG	CCCCGTGCTG
	AGCGGCTGGT	GATGGTCGTC	TTGTGGGGGT	AGCCGCTGCC	GGGGCACGAC
1451	CTGCCCGACA	ACCACTACCT	GAGCTACCAG	TCCGCCCTGA	GCAAAGACCC
	GACGGGCTGT	TGGTGATGGA	CTCGATGGTC	AGGCGGGACT	CGTTTCTGGG
1501	CAACGAGAAG	CGCGATCACA	TGGTCCTGCT	GGAGTTCGTG	ACCGCCGCCG
	GTTGCTCTTC	GCGCTAGTGT	ACCAGGACGA	CCTCAAGCAC	TGGCGGCGGC
			SacI	YFP (156-239aa) sequence	
1551	GGATCACTCT	CGGCATGGAC	GAGCTGTACA	AGGAGCTCGA	CAAGCAGAAG
	CCTAGTGAGA	GCCGTACCTG	CTCGACATGT	TCCTCGAGCT	GTTTCGTCTTC
1601	AACGGCATCA	AGGTGAACTT	CAAGATCCGC	CACAACATCG	AGGACGGCAG
	TTGCCGTAGT	TCCACTTGAA	GTTCTAGGCG	GTGTTGTAGC	TCCTGCCGTC
1651	CGTGCAGCTC	GCCGACCACT	ACCAGCAGAA	CACCCCATC	GGCGACGGCC
	GCACGTCGAG	CGGTGGTGA	TGGTCGTCTT	GTGGGGGTAG	CCGCTGCCGG
1701	CCGTGCTGCT	GCCCACAAC	CACTACCTGA	GCTACCAGTC	CGCCCTGAGC
	GGCACGACGA	CGGGCTGTTG	GTGATGGACT	CGATGGTCAG	GCGGGACTCG
1751	AAAGACCCCA	ACGAGAAGCG	CGATCACATG	GTCCTGCTGG	AGTTCGTGAC
	TTTCTGGGGT	TGCTCTTCGC	GCTAGTGTAC	CAGGACGACC	TCAAGCACTG
			SacI	SpeI	
1801	CGCCGCCGGG	ATCACTCTCG	GCATGGACGA	GCTGTACAAG	TAAGAGCTCA
	GCGGCGGCC	TAGTGAGAGC	CGTACCTGCT	CGACATGTTT	ATTCTCGAGT
	BamHI	NOS terminator			
1851	CTAGTGGATC	CCCCGATCGT	TCAAACATTT	GGCAATAAAG	TTTCTTAAGA
	GATCACCTAG	GGGGCTAGCA	AGTTTGTAAA	CCGTTATTTT	AAAGAATTCT

➤ p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)中没有的酶切位点包括:

AanI	AarI	AccB7I	AcvI	AdeI	AfeI	AgeI
AleI	AlfI	AloI	Aor51HI	ApaI	AsiGI	AsiSI
AspI	AspA2I	AsuII	AsuNHI	AvrII	AxyI	BaeI
BalI	BarI	BbrPI	BbvCI	BclI	BglII	BlnI

BlpI	BmtI	BplI	Bpu14I	Bpu1102I	BsaAI	Bse21I
BseX3I	BshTI	BsiWI	Bsp68I	Bsp119I	Bsp120I	Bsp1720I
BspOI	BspT104I	BssNAI	Bst1107I	BstBI	BstBAI	BstEII
BstENI	BstPI	BstSNI	BstXI	BstZI	BstZ17I	Bsu36I
BtuMI	CciNI	CelII	Cfr42I	CpoI	CsiI	CspI
Csp45I	CspAI	DraIII	EagI	EclXI	Eco47III	Eco52I
Eco72I	Eco81I	Eco91I	Eco105I	EcoNI	EcoO65I	FbaI
FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI	KspI
Ksp22I	MabI	MlsI	MluI	MluNI	Mox20I	MreI
MroNI	MscI	Msp20I	MssI	NaeI	Nb.BbvCI	NgoMIV
NheI	NotI	NruI	NspV	Nt.BbvCI	OliI	PacI
PaqCI	PasI	PdiI	Pfl23II	PflFI	PflMI	PI-PspI
PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	Ppu21I	PsiI
PspCI	PspEI	PspLI	PspOMI	PsyI	RgaI	RigI
RruI	RsrII	Rsr2I	SacII	SanDI	SexAI	SfaAI
SfiI	Sfr303I	SfuI	Sgfl	SgrAI	SgrBI	SgrDI
SmiI	SnaBI	SrfI	SstII	SwaI	TstI	Tth111I
Van9II	XagI	XcmI	XmaJI			

➤ p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)中的单酶切位点包括:

AatII	AbsI	Acc65I	AflII	AhdI	AlwNI	AscI
BmgBI	BsaBI	BsmI	BspDI	BspEI	BspQI	BstAPI
BtgI	BtgZI	Clal	EcoRI	EcoRV	HindIII	HpaI
KasI	KpnI	MauBI	MfeI	NarI	NcoI	NdeI
NsiI	PaeR7I	PluTI	PshAI	PspXI	PstI	SalI
SapI	SbfI	SfoI	SmaI	SphI	SspI	StuI
TspMI	XbaI	XhoI	XmaI	ZraI		

➤ p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)质粒对于插入片段进行测序时, 推荐使用p35S forward primer和tNOS reverse primer, 它们的序列如下:

p35S forward primer (1087-1111): 5'-CGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATG-3'

tNOS reverse primer (2023-2039): 5'-AAATGTATAATTGCGGG-3'

➤ p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

➤ 本质粒与p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa)共转化拟南芥原生质体后的融合蛋白表达效果请参考图1。

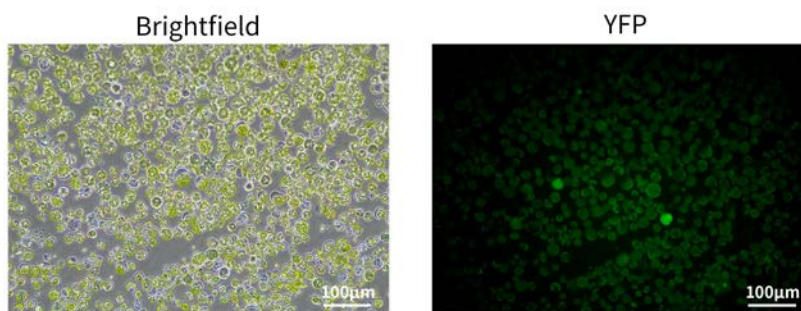


图1. 碧云天p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC) (D2687)与p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa) (for BiFC) (D2685)共转拟南芥原生质体后的融合蛋白表达效果图。在p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa)与p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)质粒上分别连接一对已知的有相互作用的叶绿体蛋白基因 *WRKY33*和 *WRKY12* 作为目的基因, 使用植物原生质体制备与转化试剂盒(C0360)制备拟南芥原生质体并共转各10µg重组质粒, 转化完成后将样品平置25°C弱光培养过夜(约16小时), 次日于荧光显微镜下检测YFP荧光信号。上图为实际检测的明场和荧光照片。实际的检测效果会因检测条件的不同而存在差异, 本图仅供参考。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2687-1µg	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)	1µg
D2687-100µg	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)	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：

1. 首次使用1μg包装的本产品时，请先取少量本质粒转染大肠杆菌，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。
2. 100μg包装的本产品质粒浓度为0.5μg/μl。可以直接用于酶切。

参考文献：

1. Hu CD, Chinenov Y, Kerppola TK. Mol Cell. 2002. 9(4):789-98.
2. Chen M, Yan C, Ma Y, Zhang XE. Biomaterials. 2021. 268:120544.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0360	植物原生质体制备与转化试剂盒	10次/40次
C0362S	植物原生质体分离试剂盒	5ml×20次
C0563	植物原生质体转染试剂盒	100次/500次
C0268	Protein Endotoxin Removal Kit	200次/1000次
D0026	质粒大量抽提试剂盒	20次
D0028	质粒大量抽提试剂盒(通用型)	20次
D2489	pRD29B-luc (植物报告基因质粒)	1μg/100μg
D2491	pUBI10-GUS (植物报告基因质粒)	1μg/100μg
D2627	p35SPPDK-EGFP-Flag (植物用绿色荧光蛋白)	1μg/100μg
D2675	HA&Myc标签BiFC阳性对照质粒对	各1μg/各100μg
D2677	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2679	p35S-C-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2681	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-DsRed (for BiFC)	1μg/100μg
D2683	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-DsRed (for BiFC)	1μg/100μg
D2685	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2687	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2689	p35S-MCS-Myc-YFP (1-155aa)-MCS (for BiFC)	1μg/100μg
D2691	p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS (for BiFC)	1μg/100μg
D2693	p35S-TP-C-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2695	p35S-TP-C-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2697	p35S-N-TP-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2699	p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg/100μg

Version 2026.03.11